Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie
- Fachrichtung Fleischhygiene -
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
und
dem Institut für Veterinärmedizin
des Bundesgesundheitsamtes Berlin

Prüfung bestehender Campylobacter jejuni / coli - Anreicherungsverfahren in Modellversuchen und Erprobung einer modifizierten Preston - Anreicherung bei der Untersuchung von Hackfleisch- und Innereienproben vom Schwein

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gottfried Alber
Tierarzt aus Stuttgart

Berlin 1986

Journal-Nr.1305

UNIV.
LEIPZIG
BIBL.

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene,
Fleischhygiene und -technologie
- Fachrichtung Fleischhygiene -
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

und

dem Institut für Veterinärmedizin
des Bundesgesundheitsamtes Berlin

Prüfung bestehender Campylobacter jejuni / coli - Anreicherungsverfahren in Modellversuchen und Erprobung einer modifizierten Preston - Anreicherung bei der Untersuchung von Hackfleisch- und Innereienproben vom Schwein

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gottfried Alber
Tierarzt aus Stuttgart

Berlin 1986

Journal-Nr. 1305

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher:	Prof. Dr. F. Hörchner
Erster Gutachter:	Prof. Dr. G. Reuter
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. E. Hellmann

Tag der Promotion: 17. Dezember 1986

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	7
2.	Literatur	9
2.1	Isolierung von C. jejuni und C. coli	9
2.1.1	Filtrationsverfahren	9
2.1.2	Selektive Festnährböden	10
2.1.2.1	Vergleichende Untersuchungen	13
2.1.3	Anreicherungsmedien und -verfahren	14
2.1.3.1	Medienzusammensetzung und Inkubationsbedingungen	23
	Basismedium	23
	Blutzusatz	23
	Selektive Zusätze	25
	Nutritive und reduzierende bzw. entgiftende Zusätze	27
	pH-Wert	29
	Inkubationsbedingungen	29
2.1.3.2	Verwendung für verschiedene Probenmaterialien	31
2.1.3.3	Vergleichende Untersuchungen	32
2.2	Vorkommen von C. jejuni/coli in vom Tier stammenden Lebensmitteln	34
3.	Eigene Untersuchungen	44
3.1	Material und Methoden	44
	Untersuchungen zur Anreicherungsmethodik von C. jejuni/coli	
3.1.1	Vorversuche zum Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN	44
3.1.2	Modellversuche zum Vergleich des Anreicherungsverfahrens nach DOYLE und ROMAN mit der Preston-Anreicherungsmethodik nach BOLTON und ROBERTSON	45

		Seite
3.1.2.1	Übersicht über die Teststämme	45
3.1.2.2	Medienzusammensetzung und -herstellung	48
3.1.2.3	Kultivierungsbedingungen	51
3.1.2.4	Vorbereitung des Inokulums	51
3.1.2.5	Inokulation in keimfreie künstliche Nährmedien	52
3.1.2.6	Reisolierungsversuche aus keimfreien künstlichen Nährmedien (quantitativ)	52
3.1.2.7	Inokulation in Hackfleischaufbereitung	52
3.1.2.8	Reisolierungsversuche aus Hackfleischaufbereitung (semiquantitativ)	54
3.1.3	Modifikation der Preston-Anreicherungsmethodik zur Verbesserung des Nachweises C. coli	54
	Untersuchungen zum Vorkommen von C. jejuni/coli in Hackfleisch und auf Innereien (Schwein)	
3.1.4	Untersuchung von Hackfleischhandelsproben (Schwein)	55
3.1.4.1	Mikrobiologische Aufarbeitung der Hackfleischhandelsproben	55
3.1.5	Untersuchung von Schweineherz, -leber und -niere aus dem Handel	56
3.1.5.1	Organe aus einer Berliner Innereiengroßhandlung	56
3.1.5.2	Organe aus Berliner Einzelhandelsgeschäften	57
3.1.5.3	Mikrobiologische Aufarbeitung der Innereienproben	57
3.1.5.4	Differenzierung der Isolate	58
3.2	Ergebnisse	59
	Untersuchungen zur Anreicherungsmethodik von C. jejuni/coli	
3.2.1	Vorversuche zum Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN	59
3.2.2	Modellversuche zum Vergleich der beiden untersuchten Anreicherungsverfahren	59
3.2.3	Modifikation der Preston-Anreicherungsmethodik zur Verbesserung des Nachweises von C. coli (Schwein)	63
3.2.3.1	Ergebnisse aus Reisolierungsversuchen nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen in Modifikationen der Preston-Anreicherungsbouillon	63

		Seite
3.2.3.2	Ergebnisse aus den Reisolierungsversuchen nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen in Hackfleischaufbereitung in Abhängigkeit von Modifikationen des Preston-Mediums	65
3.2.3.3	Ergebnisse der Reisolierungsversuche nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen in Hackfleischaufbereitung bei Verwendung der Polymyxin B - freien Modifikation des Preston-Mediums	67
	Untersuchungen zum Vorkommen von C. jejuni/coli in Hackfleisch und auf Innereien (Schwein)	
3.2.4	Campylobacter-Nachweis in Hackfleischhandelsproben (Schwein)	69
3.2.5	Campylobacter-Nachweis auf Schweineherz, -leber und -niere	69
3.2.5.1	Proben aus der Innereiengroßhandlung	72
3.2.5.2	Proben aus dem Einzelhandel	74
3.2.5.3	Differenzierung der Isolate	74
4.	Diskussion	76
4.1	Vorversuche zum Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN	76
4.2	Medienvergleich und Modifikation des Preston-Mediums	76
4.3	Untersuchung von Hackfleischhandelsproben	79
4.4	Untersuchung von Innereienproben	80
5.	Schlußfolgerungen	83
6.	Zusammenfassung	84
	Summary	87
7.	Literaturverzeichnis	89

Verzeichnis der Abkürzungen

C.	Campylobacter
FBP	ferrous sulphate-sodium metabisulphite-sodium pyruvate
CFU	colony forming unit
IU	international unit
MHK	minimale Hemmkonzentration

1. Einleitung

Campylobacter jejuni und Campylobacter coli als Erreger der Enteritis infectiosa des Menschen gelten inzwischen als nahezu ebenso bedeutend wie Keime der Gattung Salmonella. Die Nachweishäufigkeit sowohl in verdächtigen Stuhlproben als auch in Lebensmitteln tierischer Herkunft, die als Übertragungswege in Frage kommen, stieg mit der Entwicklung geeigneter Selektivmedien stetig an.
Für den Nachweis aus Lebensmitteln, bei denen mit nur geringen Campylobacter-Keimzahlen gerechnet werden kann, ist eine Anreicherung unerläßlich. Der Nachweis geringer Keimzahlen ist wichtig, weil die minimale Infektionsdosis bei Campylobacter jejuni/coli sehr niedrig liegt. Nach ROBINSON (1981) können bereits 2 bis 3 Campylobacter-Zellen pro ml Milch bei einer Trinkmenge von 180 ml zur Infektion führen, PARK et al. (1982) gaben für Fleisch einen Wert von 4 Campylobacter-Zellen pro g an.
Eine Reihe von Anreicherungsmedien und -verfahren ist bisher in der Literatur beschrieben, jedoch fehlen vielfach genauere Untersuchungen über die Eignung des Mediums in Abhängigkeit von der Art des Lebensmittels und dem zu erwartenden Vorkommen tierartspezifischer Campylobacter jejuni/coli - Stämme, die unterschiedliche Antibiotikaempfindlichkeitsmuster aufweisen können.

Außer beim Geflügel ist insbesondere bei Schweinen mit einem nahezu regelmäßigen Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli zu rechnen. Deshalb müssen Schweinefleisch bzw. Schweinehackfleisch und -innereien bei mangelhafter Schlacht- und Verarbeitungshygiene als mögliche Übertragungswege zum Menschen angesehen werden.

Die Zielsetzungen dieser Arbeit bestanden darin,

1. zwei inzwischen weit verbreitete und angewandte Anreicherungsmedien bzw. -techniken hinsichtlich ihrer Sensibilität und Selektivität für den Nachweis von Campylobacter jejuni/coli experimentell zu vergleichen,

2. mit einem geeigneten Anreicherungsmedium das Vorkommen von Campylobacter jejuni/coli

   a) in Schweinehackfleischhandelsproben und

   b) auf Innereienproben vom Schwein, die einerseits auf Großhandelsebene sowie andererseits im Einzelhandel beschafft wurden,

   zu ermitteln.

2. Literatur

2.1 Isolierung von C. jejuni und C. coli

2.1.1 Filtrationsverfahren

Vor der Entwicklung selektiver Festnährböden wurde zur Isolierung von C. jejuni/coli eine Filtration des Probenmaterials, meist Faeces, mit Filtern, die eine Porengröße von 0,65 µm besitzen, empfohlen (FLETCHER u. BERTSCHINGER, 1964; BUTZLER et al., 1973; BUTZLER u. SKIRROW, 1979 b; BOKKENHEUSER, 1982). Bei diesem Verfahren werden allerdings 99 % der Campylobacter-Zellen zurückgehalten (GRANT et al., 1980). STEELE u. McDERMOTT (1984) untersuchten 1000 Stuhlproben sowohl mittels Filtration (Porengröße 0,45 µm) als auch mittels Selektivmedien. Dabei erbrachte das von ihnen angewandte Filtrationsverfahren 89 % aller Isolate, während auf den Selektivnährböden nur 80 % der insgesamt gefundenen Stämme isoliert wurden. Eine Untersuchung von Lebensmitteln und Trinkwasser, die nur geringgradig kontaminiert sein dürften, ist allerdings mit dieser Filtrationstechnik nicht möglich, da - wie die beiden Untersucher beobachteten - nur ca. 10 % der im Probenmaterial vorhandenen Keime die Poren passierten.
Der Vorteil eines Filtrationsverfahrens gegenüber Selektivmedien liegt darin, daß auch diejenigen C. jejuni/coli-Stämme isoliert werden können, die gegenüber den im Medium enthaltenen Antibiotika (z.B. Polymyxin B bzw. Colistin, Cephalotin) empfindlich sind. Nachteil eines Filtrationsverfahrens ist seine relative Arbeitsaufwendigkeit, was die Eignung als Routineverfahren einschränkt.
Auch Kombinationen von Filtrationsverfahren und Selektivnährböden sind von einzelnen Autoren zur Isolierung von C. jejuni/coli beschrieben worden (DEKEYSER et al., 1972; FIREHAMMER u. MYERS, 1981).

2.1.2 Selektive Festnährböden

Selektive Festnährböden dienen hauptsächlich der Untersuchung verdächtiger Stuhlproben bzw. Kotproben von Tieren. In diesem Probenmaterial ist im allgemeinen von vergleichsweise hohen Keimzahlen auszugehen, so daß bereits der Ausstrich auf einer selektiv wirksamen Nährbodenplatte ausreicht, um C. jejuni/coli sicher nachzuweisen.
Zur Unterdrückung der im Probenmaterial vorhandenen Begleitflora wurde eine Kombination bestimmter Antibiotika gewählt, gegenüber denen Campylobacter jejuni/coli - zumindest in den zu erwartenden hohen Keimzahlen einer Faecesprobe - resistent ist. Für alle in Tab. 2.1 aufgeführten Selektivmedien, ausgenommen das Medium nach KARMALI et al. (1986), werden zur Zeit im Handel die jeweiligen "Campylobacter-Selektiv-Supplemente" angeboten. Besonders hinzuweisen ist auf die Entwicklung b l u t f r e i e r Campylobacter - Selektivmedien (BOLTON et al., 1984; KARMALI et al., 1986).

Tab. 2.1: Selektive Festnährböden für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	BLASER et al., 1979	BOLTON et al., 1984	BOLTON u. ROBERTSON 1982
Medienbezeichnung	"Campy-BAP"	"CCD agar"	"Preston-Medium"
Basismedium	Brucellaagar od. Blutagar	Campylobacter-Selektiv-Agar (OXOID CM 67)	Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 67) + 1,2 % New Zealand-Agar
Blutzusatz	10 % Schafblut		5 % hämolysiertes Pferdeblut
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim	5		10
Polymyxin B (IU/l)	2 500		5 000
Vancomycin	10		
Cephalotin	15		
Cefoperazon		16	
Rifampicin			10
Amphotericin B	2		
Cycloheximid			100
Na-desoxycholat		1 000	
weitere Zusätze (%)			
Caseinhydrolysat		0,3	
"Bakt." Kohle		0,4	
FBP			0,025
Eisensulfat		0,25	
Na-pyruvat		0,25	

Fortsetzung

Tab. 2.1: Selektive Festnährböden für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	KARMALI et al., 1986	LAUWERS et al., 1978	SKIRROW, 1977
Medienbezeichnung	"CSM"	"BUTZLER-Medium"	"SKIRROW-Medium"
Basismedium	Columbia-Agar	Columbia-Agar od. Blutagar	Brucellaagar od. Blutagar
Blutzusatz		5-7 % Schafblut	5-7 % hämolysiertes Pferdeblut
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim			5
Polymyxin B (IU/l)			2 500
Vancomycin	20		10
Cefoperazon	32		
Cephalotin		15	
Colistin (IU/l)		10 000	
Bacitracin (IU/l)		25 000	
Novobiocin		5	
Cycloheximid	100	50	
weitere Zusätze (%)			
"Bakt." Kohle	0,4		
Hämatin	0,4		
Na-pyruvat	0,01		

2.1.2.1 Vergleichende Untersuchungen selektiver Festnährböden

Anhand verschiedener Probenmaterialien wurden einzelne der in Tab. 2.1 aufgeführten Festnährböden hinsichtlich ihrer Selektivität und ihrer Sensitivität vergleichend geprüft.
In einer sehr umfangreichen Studie von BOLTON et al. (1983) zeigte sich bei der vergleichenden Untersuchung von Stuhl-, Kot- und Schlachthofabwasserproben, daß das Preston-Medium die höchste Nachweisquote erbrachte, zudem aber auch die Begleitflora am besten unterdrückte. "Campy-BAP" war in der Sensitivität das zweitbeste der vier geprüften Medien, jedoch konnten deutlich mehr Kontaminationskeime als auf dem BUTZLER- oder SKIRROW-Medium wachsen. BUTZLERs Medium erwies sich hinsichtlich seiner selektiven Wirkung auf die Begleitflora als das zweitbeste Medium, aber erbrachte insgesamt die niedrigste Nachweisrate. Der starke selektive Druck der Antibiotikakombination im BUTZLER-Medium wurde von einer Reihe anderer Autoren bestätigt (PATTON et al., 1981; DOYLE, 1982; STERN, 1982 b; JAHN, 1983; WEBER et al., 1983; BOKKENHEUSER u. BAROT, 1984; HASSELBACH et al., 1984). Es ist daher für stark kontaminiertes Probenmaterial zu empfehlen, wenn auch dabei bedacht werden sollte, daß insbesondere C. coli- und C. laridis-Stämme gelegentlich durch diese Antibiotikakombination bzw. aufgrund dieser relativ hohen Antibiotikakonzentrationen gehemmt werden können (BOLTON et al., 1983;, FRICKER et al., 1983).

RÜBSAMEN (1986) konnte bei der Untersuchung von Kotproben verschiedener Tierarten mit einer parallelen Anwendung des BUTZLER- und des SKIRROW-Medium maximale Nachweisraten erzielen. Auch KARMALI et al. (1986) empfahlen die kombinierte Anwendung zweier Medien, wovon das eine (SKIRROW-Medium) den Vorteil einer guten Sensitivität und das andere ("CSM" nach KARMALI et al.) den Vorteil einer sehr guten selektiven Wirksamkeit bieten sollte.

2.1.3 Anreicherungsmedien und -verfahren

Zur Untersuchung von Lebensmitteln, die meist nur mit relativ niedrigen Keimzahlen kontaminiert sind, ist eine vor dem Ausstrich auf den selektiven Festnährboden durchgeführte Anreicherungsphase in einer selektiv wirksamen Bouillon notwendig, um den Nachweis dieser sehr niedrigen Keimzahlen zu ermöglichen.
Tab. 2.2 gibt einen Überblick über die Zusammensetzung der bisher beschriebenen Anreicherungsmedien für C. jejuni/coli. Die Zusammensetzung unterteilt sich in Basismedium, Blutzusatz, selektive, nutritive und reduzierende bzw. entgiftende Zusätze. Weitere Aspekte dieser Medien bzw. dieser Anreicherungsverfahren sind der pH-Wert, das in Frage kommende Probenmaterial, die Sensitivität, Inkubationszeit, -atmosphäre und -temperatur sowie die Wahl des sich anschließenden Festnährbodens.

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	ACUFF et al., 1982	BAROT u. ROCKENHEUSER, 1984	BLASER et al., 1979
Medienbezeichnung	"Brucella-FBP-AM broth"		"Campy-thio enrichment broth"
Basismedium	Brucella-bouillon + 0,15 % Agar	Thioglykolat-bouillon	Thioglykolat-bouillon + 0,16 % Agar
Blutzusatz			
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim	5		5
Polymyxin B (IU/l)	2 500		2 500
Vancomycin	10		10
Cephalotin	15		15
Cephazolin		15	
Colistin (IU/l)		10 000	
Bacitracin (IU/l)		25 000	
Novobiocin		5	
Laurylsulfat		1 000	
Amphotericin B		2	
weitere Zusätze (%)			
FBP		0,1	
pH-Wert	?	?	?
Probenmaterial	Puteneier u. -fleisch	Hühnerkot u. -leber	Stuhl
Sensibilität	0,3-0,6 CFU/g	1 CFU	+33% im Vergleich zum Direktnachweis
Inkubation	12 Std. bei 4°C, dann 48 Std. bei 42°C mikroaerob	48 Std. mikroaerob	8 Std. aerob 4°C
Subkultivierungs-medium	Brucella-Campy-lobacter-Agar	BLASER-Medium (1979)	Campy-BAP

Fortsetzung

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	BOLTON u. ROBERTSON, 1982	BRUCE et al., 1980	CHAN u. MACKENZIE, 1982
Medienbezeichnung	"Preston-Medium"		
Basismedium	Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 67)	Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 67)	Semisolid Motility Test Medium (BBL)
Blutzusatz	5 % hämolysiertes Pferdeblut	7 % hämolysiertes Pferdeblut	7 % hämolysiertes Pferdeblut
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim	10	25	5
Polymyxin B (IU/l)	5 000	2 500	2 500
Vancomycin		10	10
Rifampicin	10		
Cycloheximid	100		
weitere Zusätze (%)			
FBP	0,025		
pH-Wert	7,5	?	?
Probenmaterial	Stuhl, Kot, Abwasser, Lebensmittel	Kot	Stuhl
Sensibilität	+30% im Vergleich zum Direktnachweis	+10% im Vergleich zum Direktnachweis	+6% im Vergleich zum Direktnachweis
Inkubation	24 Std. aerob 42°C	16-18 Std. mikroaerob 43°C	16-18 Std. aerob 42°C
Subkultivierungsmedium	Preston-Festnährboden	SKIRROW-medium	SKIRROW-medium

Fortsetzung

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	CHRISTOPHER et al., 1982	DOYLE u. ROMAN 1982	HÄNNINEN, 1982a		
Basismedium	Brucella-bouillon + 0,15 % Agar	Brucella-bouillon	Brucella-bouillon		
Blutzusatz		7 % hämolysiertes Pferdeblut			
selektive Zusätze (mg/l)			A	B	C
Trimethoprim	5	5	5	5	5
Polymyxin B (IU/l)	2 500	20 000	10 000	5 000	5 000
Vancomycin	10	15	10	10	10
Cephalotin	15				
Cephalozin			5		
Na-cholat					2
Na-desoxycholat				2	
Amphotericin B	2		2	2	2
Cycloheximid		50			
weitere Zusätze (%)					
FBP			0,05	0,05	0,05
Na-Pyruvat	0,05				
Na-succinat		0,3			
Cystein		0,01			
ph-Wert	?	7,0	?	?	?
Probenmaterial	Geflügelklein, Rohmilch, Rindfleisch	Rohmilch, Hamburger, Hühnerhaut	Rohmilch, Hackfleisch		
Sensibilität	< 3 CFU/g	0,1 CFU/g	13-30 CFU/ml		
Inkubation	12 Std. bei 2°C, dann 48 Std. bei 42°C mikroaerob	16-18 Std. mikroaerob 42°C, Schütteln	24 Std. mikroaerob 42°C		
Subkultivierungsmedium	Brucellaagar + 10% Pferdeblut + obige selektive Zusätze	Campy-BAP	modifiziertes SKIRROW-Medium		

Fortsetzung

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	HUTCHINSON u. BOLTON, 1983	LANDER u. GILL, 1980	LOVETT et al., 1983
Medienbezeichnung	"CCD broth"		
Basismedium	Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 67)	Veal Infusion broth (DIFCO)	Brucellabouillon
Blutzusatz		7 % hämolysiertes Pferdeblut	
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim		10	7,5
Polymyxin B (IU/l)		50 000	5 000
Vancomycin		40	15
Cephazolin	10		
5-Fluoruracil		500	
Na-desoxycholat (%)	0,1		
Cycloheximid		100	
weitere Zusätze (%)			
FBP	0,025		+
"Bakteriologische" Kohle	0,4	1	
Caseinhydrolysat (g/l)	3		
ph-Wert	7,4	?	?
Probenmaterial	Stuhl	Kot, Blut	Rohmilch
Sensibilität	?	?	$\leq$ 1 CFU/ml
Inkubation	24 Std. aerob 42°C	48 Std. aerob 37°C	24 Std. mikroaerob 42°C
Subkultivierungsmedium	CCD Agar oder Preston-Medium	modifiziertes SKIRROW-Medium	nach Membranfiltration (0,65 µm) auf SKIRROW-Medium (+ FBP)

Fortsetzung

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	MARTIN et al., 1983	OOSTEROM, 1985	PARK et al., 1983
Medienbezeichnung	"Campylobacter enrichment broth"	"THAL-broth"	"VTP-FBP broth"
Basismedium	Brucella-bouillon	Thioglycolat-bouillon	Brucella-bouillon
Blutzusatz		7% hämolysiertes Pferdeblut	5% hämolysiertes Pferdeblut
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim	32	20	10
Polymyxin B (IU/l)		10 000	5 000
Vancomycin		40	20
5-Fluoruracil	333		
Cefoperazon	32		
Cephalotin		100	
Na-laurylsulfat		100	
Cycloheximid		100	
weitere Zusätze (%)			
FBP			0,025
ph-Wert	?	?	7,0 ± 0,2
Probenmaterial	Stuhl, Kot	Hackfleisch, Stuhl, Hühnerschlachtkörper, Hühnerleber, Kot, Wasser	Geflügelhaut, -innereien
Sensibilität	+46,3% im Vergleich zu Direktverfahren	3-10 CFU/g Hackfleisch	0,1 CFU/g
Inkubation	36-48 Std. mikroaerob 42-43 °C	16-20 Std. mikroaerob Rotation 37 °C	48 Std. mikroaerob 42° C
Subkultivierungsmedium	Campy-BAP oder modifiziertes BUTZLER-Medium	SKIRROW- od. BUTZLER-Medium	SKIRROW-Medium

Fortsetzung

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	ROGOL et al., 1985	ROSEF, 1981	ROTHENBERG et al., 1984
Medienbezeichnung	"BEM"		"PJR"
Basismedium	Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 67) + 0,075 % Agar	10 g/l Pepton, 8 g/l "Lab-Lemco"-Pulver, 5 g/l NaCl, 1 g/l Hefe-extrakt	Brucellabouillon + 0,075 % Agar
Blutzusatz	5 % Menschen-blut		7 % hämolysiertes Pferdeblut
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim	2,5	5	5
Polymyxin B (IU/l)	1 250	2 500	20 000
Vancomycin	5	10	15
Gallensalze	1 500		
Cycloheximid			50
weitere Zusätze (%)			
FBP	0,05		0,1
Na-succinat			0,3
Cystein			0,01
Hefeextrakt	0,1		
Resazurin		0,025	
ph-Wert	7,4	?	7,0
Probenmaterial	Stuhlproben, Hühnerfleisch, -organe, Abwasser	Gallenblase (Schwein), Fliegen, Lebensmittel	Hühnerschlachtkörper
Sensibilität	+28% im Vergleich zum Direktnachweis	+42-58% im Vergleich zum Direktnachweis	+8-10% im Vergleich zum Direktnachweis
Inkubation	24 Std. mikroaerob 42°C	24, 48 Std. mikroaerob 42°C	7 bzw. 16 Std. mikroaerob 42°C, Schütteln
Subkultivierungs-medium	BUTZLER-Medium	SKIRROW-Medium	VPTK-Platte (STERN, 1981)

Fortsetzung

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	SHIMADA u. TSUJI, 1986	TANNER u. BULLIN, 1977	WATERMAN et al., 1984
Basismedium	Gifu anaerobe-modified semi-solid medium	alkalisches Peptonwasser	Thioglykolat-bouillon
Blutzusatz			5 % Pferdeblut
selektive Zusätze (mg/l)			
Trimethoprim	20		20
Polymyxin B (IU/l)	5 000		10 000
Vancomycin	20		
Rifampicin			10
Amphotericin B	2		
Cycloheximid			100
ph-Wert	7,3	8,4	?
Probenmaterial	Stuhl, Milch	Stuhl	Rohmilch, Kot
Sensibilität	3-8 CFU/g Stuhl od. ml Milch	1-10 CFU	?
Inkubation	72 Std. aerob 37°C	mikroaerob 43°C	48-96 Std. aerob 42°C
Subkultivierungs-medium	SKIRROW-Medium	SKIRROW-Medium	Pferdeblutagar, mit den o.g., etwas reduzierten Zusätzen

Fortsetzung

Tab. 2.2: Anreicherungsmedien und -techniken für die Isolierung von C. jejuni/coli

Autoren	WESLEY et el., 1983
Medienbezeichnung	"ATB"
Basismedium	20 g/l Tryptose, 2,5 g/l Hefeextrakt, 5 g/l NaCl
Blutzusatz	
selektive Zusätze (mg/l)	
Trimethoprim	
Polymyxin B (IU/l)	20 000
Vancomycin	
Rifampicin	25
Cefsulodin	6,25
weitere Zusätze (%)	
FBP	0,025
Hämin (mg/l)	2
Bicine (g/l)	10
pH-Wert	8,0
Probenmaterial	Hühnerhaut, -innereien
Sensibilität	< 1 CFU/g
Inkubation	48 Std. mikroaerob 42°C
Subkultivierungs-medium	Brucellaagar + o.g. Zusätze

2.1.3.1 Medienzusammensetzung und Inkubationsbedingungen der verschiedenen Anreicherungen

Basismedium

Vorherrschend ist Brucellabouillon sowie Thioglykolatbouillon und die Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 67). Gelegentlich erfolgt der Zusatz von 0,15 - 0,16 % Agar, um durch die herabgesetzte Sauerstoffspannung dieser halbfesten Medien die erforderliche mikroaerobe Atmosphäre herzustellen.
Thioglykolat ist zwar als reduzierend wirkendes Medium für die Kultivierung von C. jejuni/coli günstig, andererseits wiesen BOLTON u. ROBERTSON (1982) darauf hin, daß bei hefeextrakthaltigen Selektivmedien die Trimethoprimaktivität reduziert ist. SHIMADA u. TSUJI (1986) fanden bei vergleichenden Untersuchungen über Basismedien für Campylobacter-Anreicherungen heraus, daß bei Verwendung von Nährbouillon eine mikroaerobe Bebrütungsatmosphäre unerläßlich ist.

Blutzusatz

Der Zusatz von Blut zu Campylobacter-Medien erfolgt nicht nur als nutritive Ergänzung zum Basismedium, sondern auch aufgrund der sauerstoffbindenden Eigenschaften des Blutes. Möglicherweise haben auch die im Blut enthaltenen Enzyme wie Katalase, Peroxidase und Superoxiddismutase für die Inaktivierung photochemisch gebildeter toxischer Sauerstoffderivate im Medium (Superoxidanionen, Wasserstoffperoxide) eine Bedeutung (FRIDOVICH, 1974). BOLTON et al. (1984) konnten zeigen, daß Blutzusatz die Nährböden insbesondere dann, wenn sie im Hellen und aerob gelagert werden, vor entstandenen toxischen Sauerstoffderivaten schützt. Aus diesem Grunde sind die in Tab. 2.2 aufgeführten blutfreien Anreicherungsmedien mit Substanzen, die reduzierende und entgiftende Eigenschaften haben, versehen.

Wird dem Medium Blut zugesetzt, so handelt es sich vorwiegend um 5 - 7 % defibriniertes Saponin-hämolysiertes Pferdeblut. Untersuchungen von BOLTON u. COATES (1983), die sich allerdings auf Campylobacter-Festnährböden bezogen, zeigten, daß 1 - 5 % ganzes oder hämolytisches Pferdeblut vergleichbare Anwachsraten erbrachte.
Pferdeblut soll Trimethoprimantogonisten, die in hefeextrakthaltigen Basismedien vorkommen, neutralisieren (BOLTON u. ROBERTSON, 1982). Entscheidend dafür ist, daß Pferdeblut - im Gegensatz zu Schafblut - einen hohen Gehalt an dem Enzym Thymidinphosphorylase besitzt, welches die Hemmung von Trimethoprim durch Thymidin verhindert (MORRIS et al., 1982).
Einen schützenden Effekt auf gefriergeschädigte Campylobacter-Zellen vor der Wirkung verschiedener im Medium enthaltener Antibiotika durch Blut beschrieben RAY u. JOHNSON (1984a).

STERN et al. (1985b) verglichen die Anreicherungsbouillon nach DOYLE u. ROMAN (1982) mit und ohne Blutzusatz bei der Untersuchung von kontaminiertem Rinderhackfleisch und Hühnerschlachttierkörpern. Dabei zeigte sich, daß das bluthaltige Medium die Nachweisrate bei den untersuchten Hühnern signifikant steigerte, während aber für die Untersuchung von Hackfleisch ein Blutgehalt von 7 % im Vergleich zum blutfreien Medium die Nachweishäufigkeit nicht steigern konnte, sondern die erzielten Keimdichten in der Bouillon sogar verminderte.

Generelle Nachteile eines Blutzusatzes zum Medium sind

a) die variable Zusammensetzung des Blutes,
b) die begrenzte Lagerungsfähigkeit (Gefahr eines Kontaminationsgehaltes),
c) die erheblichen Kosten, falls das Blut kommerziell erworben wird.

Selektive Zusätze

In beinahe allen Cympylobacter-Anreicherungsmedien - dies gilt auch für die selektiven Festmedien - sind Trimethoprim, Polymyxin B bzw. Colistin, Vancomycin und als antimykotisch wirksame Substanzen Amphotericin B oder Cycloheximid (Actidion) enthalten. Neben weiteren Antibiotika wie Rifampicin, Bacitracin oder den Cephalosporinen (Cephalotin, Cephazolin) werden auch Gallensalze bzw. Laurylsulfat zur Unterdrückung der Begleitflora im Probenmaterial verwendet. OOSTEROM (1985) ermittelte in seinen Untersuchungen einen Gehalt von 1,5 % Ochsengalle bzw. 0,1 % Natriumlaurylsulfat als optimal und fand mit diesem Zusatz deutlich mehr positive Proben als ohne.
Vancomycin ist gegenüber gram-positive Kokken wirksam, Polymyxin B hemmt Enterobacteriaceae und Pseudomonas spp., während Trimethoprim eine Wirkung auf verschiedene Proteus spp. besitzt. Die Cephalosporine hemmen Streptococcus faecalis, Enterobacter spp., Serratia spp., Pseudomonas aeruginosa, einige Proteus spp., Yersinia enterocolitica und Bacteroides fragilis (STERN, 1982a).

Es ist nun kritisch zu prüfen, ob die jeweilige Kombination bzw. Dosierung der selektiven Zusätze eines Mediums

1. ausreichend selektiv gegenüber der im Probenmaterial angesiedelten Flora und
2. gleichzeitig nicht hemmend gegenüber C. jejuni/coli

wirksam ist. Dabei muß berücksichtigt werden, daß bereits vorgeschädigte (z.B. durch Hitzeeinwirkung oder Gefrieren, durch Trocknung, durch Luftsauerstoff, etc.) Campylobacter-Zellen empfindlich auf Chemotherapeutika bzw. Chemotherapeutikakonzentrationen reagieren können, gegenüber denen sie normalerweise resistent sind (HUMPHREY u. CRUICKSHANK, 1985).

Gerade niedrige Keimzahlen, die in Anreicherungsmedien zur Vermehrung gebracht werden sollen, weisen im allgemeinen niedrigere minimale Hemmkonzentrationstiter auf als eine Bakterienpopulation, die sich am Ende der logarithmischen Wachstumsphase befindet (OBERZILL, 1967) und die üblicherweise zur Bestimmung des MHK-Wertes herangezogen wird.

Bei P o l y m y x i n B bzw. dessen Derivat C o l i s t i n (= P o l y m y x i n E), beide in unterschiedlicher Dosierung aufgrund der Wirksamkeit gegenüber C. coli häufig sowohl in Campylobacter-Fest- und -Flüssigmedien enthalten, wurde immer wieder in der Literatur auf inhibitorische Effekte gegen Campylobacter jejuni/coli hingewiesen:

- GILCHRIST et al. (1981) beschrieben eine hemmende Wirkung von Polymyxin B und Colistin auf 29 bzw. 37 (je nach Dosis) von 42 getesteten C. jejuni-Isolaten. Dabei stellten sie fest, daß die Aktivität dieser Polypeptidantibiotika temperaturabhängig ist und empfahlen deshalb eine Inkubationstemperatur von 42 ^{o} C, da bei dieser Temperatur im Vergleich zu 37 ^{o} C die Aktivität reduziert ist.

- KARMALI et al. (1981) untersuchten bei 32 C. jejuni-Stämmen den Einfluß der Größe des Inokulums sowie der Inkubationstemperatur auf die minimale Hemmkonzentration von Polymyxin B bzw. Colistin. Sie ermittelten, daß eine Vergrößerung des Inokulums deutlich die minimale Hemmkonzentration erhöhte, außerdem zeigten sie, daß eine Inkubation bei 42^{o}C im Vergleich zu 36^{o}C mit einer 2 - 4fachen Erhöhung des MHK-Wertes verbunden war.

- HÄNNINEN (1982b) wies nach, daß hitzegeschädigte C. jejuni - Stämme empfindlicher auf Polymyxin B bzw. Colistin reagieren als nicht hitzevorbehandelte. Die erhöhte Empfindlichkeit gegenüber niedrigen Inokula konnte sie bestätigen (HÄNNINEN, 1982a).

- RAY u. JOHNSON (1984a, 1984b) konnten bei gefriergeschädigten Campylobacter-Zellen nachweisen, daß 95 % der vorgeschädigten Keime durch die Wirkung von Polymyxin B - neben der zusätzlich schädigenden Wirkung einer Bebrütungtemperatur von 42 ^{o} C - innerhalb von 2 Stunden ihre Lebensfähigkeit einbüßten.

Diese Empfindlichkeit gefriergeschädigter Campylobacter-Zellen gegenüber Polymyxin B und der an sich dem Temperaturoptimum entsprechenden Temperatur von 42 ^{o} C wurde von PALUMBO (1986) bestätigt.

- BOPP et al. (1982) wiesen auf einen synergistischen Effekt zwischen Trimethoprim und Polymyxin B hin, den sie bei den Campylobacter Selektivmedien nach SKIRROW u. BLASER-WANG festgestellt hatten. Andere Untersucher (GARROD u. WATERWORTH, 1962; ROSENBLATT u. STEWART, 1974) beschrieben einen solchen Synergismus von Trimethoprim und Polymyxin B hinsichtlich der Wirksamkeit gegenüber Proteusarten und Pseudomonas mirabilis.

Die Polymyxin B - bzw. Colistinempfindlichkeit von C. jejuni/coli wurde von weiteren Untersuchern bestätigt (VANHOOF et al., 1980; ROBSAMEN et al., 1982; LOVETT et al., 1983; WEBER et al., 1983; WEISSER, 1983; STEELE u. McDERMOTT, 1984; NG et al., 1985).

Eine Empfindlichkeit von C. coli gegenüber C e p h a l o t i n wurde von BROOKS et al. (1985) für Rinderisolate beschrieben. STICHT-GROH (1985) stellte eine solche Empfindlichkeit bei Schweineisolaten fest.

Nutritive und reduzierende bzw. entgiftende Zusätze

Von rein nutritiver Bedeutung ist C a s e i n h y d r o l y s a t , welches aufgrund seines Gehaltes an Wachstumsfaktoren als Zusatz zu Nährmedien für anspruchsvollere Keime genommen wird (OXOID Deutschland GmbH, 1983). BOLTON et al. (1984) stellten fest, daß Caseinhydrolysat das Wachstum einiger aus der Umwelt isolierter C. laridis-Stämme deutlich verbesserte.

Zusätze wie Natriummetabisulfit, Cystein und Succinat sollen durch ihre reduzierende Eigenschaft die für die Kultivierung der mikroaerophilen Campylobacter-Keime notwendige Atmosphäre herstellen. RAY u. JOHNSON (1984a) stellten nach Zugabe von Cystein und Succinat zum Medium eine deutliche Verbesserung der Nachweisbarkeit gefriergeschädigter Campylobacter-Zellen fest.

Eisenverbindungen wie Hämin bzw. Hämatin und Eisensulfat sind für eisenabhängige Enzyme wie Katalase, Succinatedehydrogenase, Cytochrome und Superoxiddismutase von Bedeutung (HOFFMANN et al., 1979a). Diese eisenabhängigen Enzyme sowie auch "bakteriologische" Kohle und Natriumpyruvat greifen nicht in das Stoffwechselgeschehen der Keime ein, sondern schützen diese vor photochemisch oder durch Autooxidation im Medium selber gebildeten Superoxidanionen, Hydroxyl- oder Sauerstoffradikalen und Wasserstoffperoxiden (HOFFMANN et al., 1979a, 1979b; BOLTON u. COATES, 1983).

Zur Verbesserung der Aerotoleranz empfahlen GEORGE et al. (1978) deshalb einen FBP-Zusatz (Eisen-Bisulfit-Pyruvat) von 0,025 % (Gew./Vol.), der sowohl für Fest- als auch Flüssig-Campylobacter-Nährmedien verwendet werden kann. BOLTON et al. (1984) wiesen darauf hin, daß es sich bei dem FBP-Zusatz nicht um ein "Anreicherungssupplement" (OXOID Deutschland GmbH, 1983) handelt, sondern daß die Bedeutung dieses Zusatzes in der Inaktivierung toxischer Sauerstoffderivate im Medium liegt. CHOU et al. (1983) konnten zeigen, daß ein FBP-Zusatz von 0,025 % (Gew./Vol.) zu einem Festnährboden die Überlebensfähigkeit der Kultur deutlich verbessert. Die charakteristische spiralförmige Gestalt und die korkenzieherartige Motilität von C. jejuni/coli bleibt viermal länger (30 Tage bei 4 ^{o} C) erhalten als bei Medien ohne FBP-Zusatz, auch wenn diese Blut enthalten. Somit wird also die bei Campylobacter-Kulturen, die aerob und eventuell auch bei Raumtemperatur aufbewahrt werden, typische kokkoide Degeneration wesentlich verzögert.

ph-Wert

Die pH-Werte der in Tab. 2.2 aufgeführten Campylobacter-Anreicherungsmedien liegen im Bereich zwischen 7,0 und 8,4. DOYLE u. ROMAN (1981) ermittelten einen optimalen pH-Bereich für die Vermehrung von Campylobacter zwischen 6,5 und 7,5. Bei der Untersuchung von Hühnerhaut und -innereien mittels Anreicherung stellte sich ein pH-Wert von 7,0 im Vergleich zu pH 6,0/6,5/7,5/8,0 als optimal heraus (PARK et al., 1983).

Inkubationsbedingungen

Es wird eine I n k u b a t i o n s d a u e r von 8 - 48 Stunden beschrieben. PARK et al. (1983) ermittelten für die Untersuchung von Hühnerhaut und -innereien eine optimale Anreicherungsphase von 48 Stunden. Dies wurde von FRICKER (1984) bestätigt. 48 Stunden galt ebenso für die Untersuchung von Wasser als optimal (RIBEIRO et al., 1982; RIBEIRO u. PRICE, 1984). GARCIA et al. (1985) fanden allerdings bei einer Inkubationsdauer von 24 Stunden 24 % mehr positive Proben als bei 48 Stunden (Untersuchung von Gallenblase, Darm, Leber, Milz, Lymphknoten von Rindern). ROTHENBERG et al. (1984) verglichen in einer Studie über 3 verschiedene Campylobacter-Anreicherungsverfahren Inkubationszeiten von 7 Stunden und 16 Stunden, wobei für beide Zeiträume die Proben (Hühnerschlachttierkörper) in einem Schüttelwasserbad kontinuierlich bewegt wurden. Es stellte sich dabei heraus, daß die Isolationsrate nach 16 Stunden um nur 2 - 16 % höher war als nach 7 Stunden.

Die Mehrheit der erwähnten Campylobacter-Anreicherungsverfahren (Tab. 2.2) wird in einer mikroaeroben I n k u b a t i o n s a t m o s p ä r e durchgeführt. Gelegentlich wird auch aerob unter Verwendung reduzierender Substanzen in der Bouillon, die ja als Flüssigmedium bereits eine reduzierte Sauerstoffspannung aufweist, bebrütet. RIBEIRO u. PRICE (1984) fanden bei der Untersuchung von Wasser 50 % mehr positive Proben, wenn sie die

Anreicherungsbouillon, die bereits 0,025 % FBP-Zusatz (GEORGE et al., 1978) enthielt, mikroaerob bebrüteten. Die mikroaerobe Atmosphäre wirkte sich hier besonders günstig auf die Nachweisquote von C. j e j u n i aus. In einem Vergleich des Anreicherungsverfahren nach DOYLE u. ROMAN (1982) mit dem von PARK et al. (1981) zeigte sich, daß eine kontinuierliche Durchflutung der Bouillon mit einem Gasgemisch (10 % CO_2, 90 % N_2) eine günstigere Atmosphäre schafft als die Teilevakuierung von Saugflaschen und das anschließende Auffüllen mit einem Gasgemisch aus 5 % O_2, 10 % CO_2 und 85 % N_2 (HEISICK et al., 1984).

Neben einem einzelnen Verfahren der Kälteanreicherung (BLASER et al., 1979) sind nur Anreicherungsverfahren bei einer I n k u b a t i o n s t e m p e r a t u r zwischen 37 ^{o} C und 43 ^{o} C beschrieben. Da bei Campylobacter jejuni/coli die optimale Vermehrungstemperatur zwischen 42 ^{o} C und 45 ^{o} C liegt (DOYLE u. ROMAN, 1981) und dieser Temperaturbereich gleichzeitig inhibitorisch auf eine Reihe von anderen Bakterienarten aus der Begleitflora eines Probenmateriales wirkt, erscheint es empfehlenswert, bei 42 - 43 ^{o} C zu inkubieren. PARK et al. (1983) erreichten bei 42 ^{o} C signifikant höhere Nachweisquoten bei der Untersuchung von Geflügelhaut und -innereien als bei einer Inkubationstemperatur von 35 ^{o} C.
Aufgrund der bei 37 ^{o} C erhöhten Polymyxin B - bzw. Colistin-Aktivität, bei der möglicherweise inhibitorische Effekte gegenüber C. jejuni/coli auftreten können, ist eine Temperatur von 42 ^{o} C auch deshalb günstig (GILCHRIST et al., 1981).
RAY u. JOHNSON (1984a; 1984b) stellten allerdings fest, daß eine Inkubationstemperatur von 42 ^{o} C sich negativ auf bereits durch Gefrieren vorgeschädigte Campylobacter-Zellen auswirkt. Sie empfahlen daher eine sechsstündige Vorbebrütung bei 37 ^{o} C und erst danach eine Bebrütungstemperatur von 42 ^{o} C.

2.1.3.2 Verwendung der Anreicherungsmedien für verschiedene Probenmaterialien

Es fällt auf, daß die meisten Campylobacter-Anreicherungsmedien für mehrere, sehr unterschiedliche Probenarten vorgeschlagen sind: für Wasser und Lebensmittel wie Milch, Eier, Fleisch und Innereien, aber auch für Faecesproben oder klinisches Probenmaterial wie Blut. Allein schon die Unterschiedlichkeit der einzelnen Lebensmittel zeigt, daß aufgrund der jeweiligen produktspezifischen Mikroflora eine einzige feststehende Rezeptur für alle möglichen Lebensmittel nicht sinnvoll sein kann. Deshalb sollten vor der Untersuchung einer bestimmten Probenart, artefiziell kontaminierte Proben im Anreicherungsmedium vorgeprüft werden. Zu achten ist dabei vor allem auf ausreichende Selektivität gegenüber der produkteigenen bakteriellen und mykotischen Flora, außerdem auf eine gute Verteilung des Probenmateriales im Medium, desweiteren sollte aber auch auf eine mögliche pH-Wertveränderung während der Bebrütung geachtet werden. STERN (1982) wies darauf hin, daß die Mikroflora von Lebensmitteln die Empfindlichkeit von Campylobacter gegenüber den im Medium enthaltenen Antibiotika verändern kann, außerdem aber auch der Fettgehalt einer Lebensmittelprobe - im Unterschied zu Faecesproben - einzelne Bereiche innerhalb der Probe abkapseln kann.

Zum Verhältnis Probenmenge : Bouillonmenge gaben DOYLE u. ROMAN (1982) für ihr Medium bei der Untersuchung von Hühnerhaut, Hamburgern und Rohmilch 1 : 5 (25 g bzw. 25 ml der Probe auf 100 ml Anreicherungsbouillon) an, wobei die Nachweisgrenze bei 0,3 - 1,0 Campylobacter-Zellen pro g bzw. pro ml Lebensmittel lag. BOLTON et al. (1983) empfahlen pro Tupferprobe (Kot, Stuhl, Abwasser) 5 ml Anreicherungsbouillon.

Eine Anreicherung von S t u h l p r o b e n erkrankter Menschen ist im Falle einer akuten Diarrhoe nicht nötig (GILCHRIST et al., 1981; HUTCHINSON u. BOLTON, 1983; SKIRROW u. BENJAMIN, 1984).

Nur eine Stuhlprobe, die in der Rekonvaleszensphase genommen wurde, bzw. eine bereits ältere Probe, sollte mittels Anreicherung untersucht werden. CHAN u. MACKENZIE (1984) empfahlen darüber hinaus die Anreicherung von Stuhlproben im Falle von Patienten, die mit Antibiotika vorbehandelt sind, oder auch zur Ermittlung von möglicherweise infizierten Kontaktpersonen. Untersuchungen von RIBEIRO et al. (1982), in denen anhand von Stuhlproben die Preston-Anreicherung mit dem Direktnachweis auf dem SKIRROW-Selektivmedium verglichen wurde, bestätigten die Notwendigkeit einer Anreicherung für die bereits genannten Ausnahmefälle. Falls jedoch Campy-BAP (BLASER et al., 1979) als Festnährböden zur Untersuchung von Stuhlproben verwendet wird, empfahlen RUBIN u. WOODARD (1983) eine generelle vorausgehende Kälteanreicherung in "Campy-thio enrichment broth" (BLASER et al., 1979) für einen optimalen Campylobacter-Nachweis.

OOSTEROM (1985) fand bei der Untersuchung von Rinderkot ca. viermal mehr positive Proben durch eine zusätzliche Anreicherung, was er auf sehr niedrige Keimdichten in Rinderkot zurückführte.

2.1.3.3 Vergleichende Untersuchungen einiger Anreicherungsmedien und -verfahren

Bisherige vergleichende Untersuchungen orientierten sich vorwiegend am Nachweis von C. j e j u n i aus unterschiedlichsten entweder nativen oder artefiziell kontaminierten Probenmaterialien.

Bei der Untersuchung von Hühnerinnereien konnte FRICKER (1984) mit dem Preston-Anreicherungsmedium und der Anreicherungsbouillon von DOYLE u. ROMAN vergleichbare Nachweisraten erzielen. Die parallel verwendeten Anreicherungsmedien "Campy-thio enrichment broth" (BLASER et al., 1979) und die Bouillon

von LANDER (1982) erbrachten deutlich niedrigere Nachweisquoten. Als Subkultivierungsmedium erwies sich der Preston-Festnährboden im Vergleich zu "Campy-BAP" (BLASER et al., 1979) als effektiver, was jedoch nicht statistisch signifikant war. Untersuchungen von FRICKER et al. (1983), in denen in Kotproben von Seemöwen durch die Preston-Anreicherung geringfügig, aber nicht signifikant mehr Campylobacter-Isolate als durch die Anreicherungsbouillon nach DOYLE u. ROMAN gefunden werden konnten, bestätigten das Ergebnis der Untersuchung von Hühnerinnereien.
HEISICK et al. (1984) verglich die Anreicherungsbouillon nach DOYLE u. ROMAN mit der von PARK et al. (1981) bei der Untersuchung artefiziell kontaminierter Hamburger. Dabei konnte er keine signifikanten Unterschiede feststellen.

In einem weiteren Vergleich zwischen diesen beiden Anreicherungsmedien anhand von kontaminierten Hähnchen fand ROTHENBERG et al. (1984) eine vergleichbare Sensitivität beider Medien. Die selektive Wirksamkeit gegenüber der Begleitflora war jedoch im Falle der Bouillon von DOYLE u. ROMAN deutlich besser.
BEUCHAT (1985) gelang es mit dem Anreicherungsverfahren nach DOYLE u. ROMAN, C. jejuni bis zu einer Nachweisgrenze von 1 Zelle pro 20 g Hähnchenfleisch zu reisolieren.
Rohmilch, die mit weniger als 1 Campylobacter-Zelle pro g inokuliert war, wurde von HUNT et al. (1985) sowohl mit dem Anreicherungsverfahren nach DOYLE u. ROMAN als auch mit dem Verfahren nach LOVETT et al. (1983) vergleichend untersucht. Dabei zeigt sich, daß das Anreicherungsverfahren nach DOYLE u. ROMAN in diesem sehr niedrigen Keimzahlenbereich signifikant geringere Nachweisraten erbrachte.

2.2 Vorkommen von C. jejuni/coli in vom Tier stammenden Lebensmitteln

Die Campylobakteriose des Menschen ist eine nach dem Bundesseuchengesetz (§ 3 Abs. 1,3. "Enteritis infectiosa b) übrige Formen, einschließlich mikrobiell bedingter Lebensmittelvergiftungen") meldepflichtige Erkrankung (HOLLÄNDER, 1982a). Den möglichen Übertragungswegen von C. coli und C. jejuni, die beide gleichermaßen Z o o n o s e e r r e g e r darstellen, kommt daher große Bedeutung zu. Vom Tier stammende Lebensmittel werden als häufigste Infektionsquelle für menschliche Erkrankungen angesehen (BORNEMANN-ROHRIG, 1985). Bisherige Untersuchungen über die Kontaminationshäufigkeit vom Tier stammender Lebensmittel sind für Geflügelschlachttierkörper, Geflügelinnereien und Hühnereier in Tab. 2.3 aufgezeigt, für Schlachttierkörper, Fleisch, Innereien und Fleischerzeugnisse von Rind, Schaf und Schwein in Tab. 2.4, außerdem für Rohmilch in Tab. 2.5.

Tab. 2.3: Vorkommen von C. jejuni/coli auf Geflügelschlachttierkörpern, Geflügelinnereien und Hühnereiern

Probenart/Vermarktungsstufe (evtl. Besonderheit)	n[a]	% positive Proben D[b]	A[c]	Autor
Hühnerschlachttierkörper/				
Schlachtbereich				
	118	75		MARJAI et al. (1981)
	36		67	ROGOL et al. (1984)
(Hennen)	313	48		ROSEF et al. (1984)
(Broiler)	348	14		"
	40	13		STERN et al. (1984)
(2 Tage gefroren)	40	0		"
(Muskulatur)	50	0		ALTMEYER et al. (1985)
(Haut)	180	81		"
	12		50	LAMMERDING et al. (1985)
	120		49	OOSTEROM (1985)
Einzelhandel				
	50	32	62	PARK et al. (1981)
	50		24	"
(frisch)	8		63	SVEDHEM et al. (1981)
(gefroren)	10		60	" (1981)
	120	13		HOLLÄNDER (1982b)
(in Babyfertignahrung)	42	0		"
(1. Lagerungstag)	94	83		KINDE et al. (1983)
(2./3. Lagerungstag)	45	16		"
	250		85	PARK et al. (1983)
(Flügel)	9		56	WESLEY et al. (1983)
(Oberschenkel)	11		64	"
(Unterschenkel)	12		33	"
(äußere Oberfläche)	34		88	DAWKINS et al. (1984)
(äußere Oberfläche, gefroren)	31		10	"
(innere Oberfläche, gefroren)	60		30	"
	86		45	ROGOL et al. (1984)
(Restaurants)	43		26	"
	360		30	STERN et al. (1985a)

[a] Anzahl der Proben [b] Direktnachweis [c] Anreicherung

Fortsetzung
Tab. 2.3: Vorkommen von C. jejuni/coli auf Geflügelschlachttierkörpern, Geflügelinnereien und Hühnereiern

Probenart/Vermarktungsstufe (evtl. Besonderheit)	n[a]	% positive Proben D[b]	% positive Proben A[c]	Autor
Hühnerinnereien/				
Schlachtbereich				
	124		87	CHRISTOPHER et al. (1982)
(chloriertes Wasser)	25		0	"
(nur Leber)	40	30		STERN et al. (1984)
(nur Leber, 2 Tage gefroren)	40	15		"
(nur Leber)	30	87		ALTMEYER et al. (1985)
	80		65	OOSTEROM (1985)
Einzelhandel				
(nur Muskelmagen, gefroren)	5		20	CHRISTOPHER et al. (1982)
(nur Leber)	117	48		BAROT et al. (1983)
	100		76	PARK et al. (1983)
	16		56	WESLEY et al. (1983)
	56		41	DAWKINS et al. (1984)
(gefroren)	198		89	FRICKER (1984)
Putenschlachttierkörper/				
Schlachtbereich				
(chloriertes Wasser)	25		0	CHRISTOPHER et al. (1982)
	30	57		ROSEF et al. (1984)
	32		87	LAMMERDING et al. (1985)
Einzelhandel				
	120	77		HOLLÄNDER (1982b)
Puteninnereien/				
Schlachtbereich				
(Magen)	86		1	CHRISTOPHER et al. (1982)
(Leber)	86		0	"
Entenschlachttierkörper/				
Einzelhandel				
(gefroren)	140	69		HOLLÄNDER (1982b)

[a] Anzahl der Proben [b] Direktnachweis [c] Anreicherung

Fortsetzung
Tab. 2.3: Vorkommen von C. jejuni/coli auf Geflügelschlachttierkörpern, Geflügelinnereien und Hühnereiern

Probenart/Vermarktungsstufe (evtl. Besonderheit)	n[a]	% positive Proben D[b]	A[c]	Autor
Hühnereier				
(Batteriehaltung)	110	0		HOLLÄNDER (1982b)
(Freilandhaltung)	104	5		"
	226		1	DOYLE (1984)

[a] Anzahl der Proben [b] Direktnachweis [c] Anreicherung

Tab. 2.4: Vorkommen von C. jejuni/coli auf Schlachttierkörpern, Fleisch, Innereien und in Fleischerzeugnissen

Probenart/Vermarktungsstufe (evtl. Besonderheit)	n[a]	% positive Proben D[b]	A[c]	Autor
Rinderschlachttierkörper/ Schlachthof	58	2		STERN (1981b)
	117	32		BOLTON et al. (1982)
	100	0		HUDSON u. ROBERTSON (1982)
(Kalb)	50	22[d]		KORSTEINER et al. (1985)
	20	5		"
	269		25	LAMMERDING et al. (1985)
Schafschlachttierkörper/ Schlachthof	40	8		STERN (1981a)
	59	24		STERN (1981b)
	126		70	BOLTON et al. (1982)
	100	0		HUDSON u. ROBERTSON (1982)
Schweineschlachttierkörper/ Schlachthof	58	38		STERN (1981b)
	90	56		BOLTON et al. (1982)
	100	59		HUDSON u. ROBERTSON (1982)
(24 Std.Kühlung, abgetrock.)	?	2		HUDSON u. ROBERTSON (1982)
(24 Std.Kühlung, feucht)	?	26		HUDSON u. ROBERTSON (1982)
	152	49		BORNEMANN-ROHRIG (1985)
(24 Std. Kühlung)	10	0		"
	112	10	13	BRACEWELL et al. (1985)
(20 Std. Kühlung)	112	0	0	"
	18	0		KORSTEINER et al. (1985)
	146		9	LAMMERDING et al. (1985)
	210		9	OOSTEROM (1985)
(18-24 Std.Kühlung)	210		0	"
Rinder-, Schaf- u. Schweineschlachtkörper / Großhandel	170		0	BOLTON et al. (1982)
Einzelhandel	100		0	BOLTON et al. (1982)

[a] Anzahl der Proben
[b] Direktnachweis
[c] Anreicherung
[d] teilweise Direktnachweis, teilweise Anreicherung

Fortsetzung

Tab. 2.4: Vorkommen von C. jejuni/coli auf Schlachttierkörpern, Fleisch, Innereien und in Fleischerzeugnissen

Probenart/Vermarktungsstufe (evtl. Besonderheit)	n[a]	% positive Proben D[b]	% positive Proben A[c]	Autor
Rindfleisch/Schlachthof				
	26		0	CHRISTOPHER et al. (1982)
	39	0		STERN et al. (1984)
(2 Tage gefroren)	35	0		"
Einzelhandel	360		5	STERN et al. (1985a)
Schaffleisch/Schlachthof				
	36	6		STERN et al. (1984)
(2 Tage gefroren)	50	2		"
Einzelhandel	360		8	STERN et al. (1985a)
Schweinefleisch/Schlachthof				
	41	0		STERN et al. (1984)
(2 Tage gefroren)	40	0		"
Einzelhandel	360		5	STERN et al. (1985a)

[a] Anzahl der Proben
[b] Direktnachweis
[c] Anreicherung

Fortsetzung

Tab. 2.4: Vorkommen von C. jejuni/coli auf Schlachttierkörpern, Fleisch, Innereien und in Fleischerzeugnissen

Probenart/Vermarktungsstufe (evtl. Besonderheit)	n[a]	% positive Proben D[b]	A[c]	Autor
Rinderinnereien/Schlachthof				
(Leber)	40	15		STERN et al. (1984)
(Leber, 2 Tage gefroren)	36	6		"
(v.a. Leber)	56		16	BOLTON et al. (1985)
(Leber)	100	1	9	GARCIA et al. (1985)
Einzelhandel				
(v.a. Leber)	97		7	BOLTON et al. (1985)
Schafinnereien/Schlachthof				
(Leber)	44	32		STERN et al. (1984)
(Leber, 2 Tage gefroren)	35	0		"
(v.a. Leber)	107		38	BOLTON et al. (1985)
Einzelhandel				
(v.a. Leber)	125		24	BOLTON et al. (1985)
Schweineinnereien/Schlachthof				
(Leber)	35	26		STERN et al. (1984)
(Leber, 2 Tage gefroren)	30	0		"
(v.a. Leber)	41		3	BOLTON et al. (1985)
(Geschlinge)	5	100		BORNEMANN-ROHRIG (1985)
Einzelhandel				
(v.a. Leber)	26		12	BOLTON et al. (1985)

[a] Anzahl der Proben
[b] Direktnachweis
[c] Anreicherung

Fortsetzung

Tab. 2.4: Vorkommen von C. jejuni/coli auf Schlachttierkörpern, Fleisch, Innereien und in Fleischerzeugnissen

Probenart/Vermarktungsstufe (evtl. Besonderheit)	n[a]	% positive Proben D[b]	A[c]	Autor
Rinderhackfleisch				
	2015	1[d]		TURNBULL u. ROSE (1982)
	50	0		STERN et al. (1984)
(2 Tage gefroren)	45	0		"
	135		2	BOLTON et al. (1985)
	360		4	STERN et al. (1985a)
Schweinehackfleisch				
	9		100	SVEDHEM et al. (1981)
	12	8		HOLLÄNDER (1982b)
	60	0		TEUFEL (1982)
	342	0,3		TURNBULL u. ROSE (1982)
	12	0	0	NESBAKKEN et al. (1985)
	248		0	OOSTEROM (1985)
Hackfleisch				
	278		0	BREER (1984)
Brät				
	187		0	BREER (1984)
	143		1	BOLTON et al. (1985)
Wurst				
	40	3		STERN et al. (1984)
	45	0		"
	360		4	STERN et al. (1985a)
Fleisch- u. Fleischerzeugnisse				
/ Schlachthof	1236		4	TURNBULL u. ROSE (1982)
/ Einzelhandel	4933		1	"

[a] Anzahl der Proben
[b] Direktnachweis
[c] Anreicherung
[d] teilweise Direktnachweis, teilweise Anreicherung

Tab. 2.5: Vorkommen von C. jejuni/coli in Rohmilch

n[a]	% positive Proben D[b]	A[c]	Autor	
760		0	BREER	(1984)
200		0	CHRISTOPHER et al.	(1982)
108		0,9	DOYLE u. ROMAN	(1982a)
127		0	HOLLÄNDER	(1982b)
195		1,5	LOVETT et al.	(1983)
1200		0,2	DE BOER et al.	(1985)
200		0	OOSTEROM	(1985)
36	0[d]		PRIMAVESI	(1985)
205	0		STICHT-GROH	(1985)

[a] Anzahl der Proben
[b] Direktnachweis
[c] Anreicherung
[d] Nachweismethode nicht genannt

Versucht man nun, diese Kontaminationsbefunde zusammenzufassen, so lassen sich folgende Aussagen formulieren:

1. Die Kontaminationsrate von Geflügelschlachttierkörpern ist generell hoch. Eine deutliche Reduktion vom Schlachtbereich zum Einzelhandel findet nicht statt.

2. Hühnereier sind nur sehr selten mit C. jejuni/coli kontaminiert.

3. Auf Schlachttierkörpern von Rindern, Schafen und Schweinen sind unmittelbar nach der Schlachtung regelmäßig Campylobacter-Keime bereits im Direktausstrich nachweisbar. Nach 24stündiger Lagerung jedoch ist sogar nach Anreicherung der Proben der Nachweis nicht mehr möglich.

4. Die Nachweisquote von C. jejuni/coli auf Rind-, Schaf- und Schweinefleisch aus dem Einzelhandel, die bisher wenig untersucht wurde, liegt nach einer größeren Studie (STERN et al., 1985a), bei der mit einem empfindlichen Anreicherungsverfahren gearbeitet wurde, bei 5 - 8 %.

5. Innereien von Rind, Schaf und Schwein, die unmittelbar nach der Schlachtung der Tiere regelmäßig mit C. jejuni/coli kontaminiert sind, sind auf Einzelhandelebene zu 7 - 24 % kontaminiert. Dies ist allerdings das Ergebnis aus einer einzelnen bisherigen Untersuchung von Innereien aus dem Einzelhandel (BOLTON et al., 1985).

6. Bei Fleischerzeugnissen, wie Hackfleisch, Brät und Wurst, ist sehr selten Campylobacter festzustellen. Dies wurde in verschiedenen umfangreichen Untersuchungen übereinstimmend gezeigt.

7. C. jejuni/coli ist äußerst selten in Rohmilch, die bereits vielfach mittels Anreicherung untersucht wurde, nachweisbar.

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

Untersuchungen zur Anreicherungsmethodik von C. jejuni / coli

3.1.1 Vorversuche zum Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN

Es wurde versucht, das von DOYLE und ROMAN (1982) vorgeschlagene Anreicherungsverfahren (Evakuierung und Begasung einzelner Saugflaschen mit anschließender 16-18stündiger Bebrütung im Schüttelwasserbad bei 100 Schüttelbewegungen pro Minute) so zu vereinfachen - und damit für die Praxis eines Untersuchungsamtes durchführbar zu machen - , daß auf die Evakuierung und Begasung einzelner Flaschen verzichtet werden konnte. Statt dessen sollten Erlenmeyerkolben in einem Anaerobiertopf ("GasPak"), in dem mit den für diesen Topf vorgesehenen Gasentwicklungstüten für Campylobacter ("CampyPak") die erforderliche mikroaerobe Atmosphäre hergestellt werden kann, untergebracht werden. Dieser Topf wurde dann auf ein im Brutschrank befindliches Schüttelgerät gestellt und bei 42 ^{o} C 16-18 Stunden lang kontinuierlich samt Inhalt geschüttelt. Wie in der Beschreibung der verwendeten Gasentwicklertüten angegeben, ist nach ca. 60 Minuten, nachdem die Reaktionen in Gang gesetzt sind, von einer vollständig mikroaeroben Atmosphäre im Topf auszugehen. Das Gerät wurde deshalb erst zu diesem Zeitpunkt eingeschaltet. Darüber hinaus wurde auf locker sitzende Stopfen bei den Erlenmeyerkolben geachtet.

Zur Überprüfung dieses vereinfachten Verfahrens wurden die Teststämme (siehe Tab. 3.1 und Tab. 3.2) SK 108, SK 118, SH 7, WK 23, Ku 13, Gs 1, NCTC 11353, WG 23, DG 2, H6, H8 und NCTC 11168 in die Anreicherungsbouillon nach DOYLE und ROMAN inokuliert. Nach Bebrütung wurde versucht, die Inokulate zu reisolieren

Parallel dazu erfolgte ein Versuchsansatz ohne Schütteln.
Die Ergebnisse aus beiden Ansätzen wurden durch je einen Wiederholungsansatz abgesichert.

3.1.2 Modellversuche zum Vergleich des Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN (1982) mit der Preston-Anreicherungsmethodik nach BOLTON und ROBERTSON (1982)

Mit einer Auswahl von 29 Teststämmen, die sich am überwiegenden Vorkommen von Campylobacter c o l i beim Schwein orientierte, wurden die beiden zu vergleichenden Anreicherungsmedien mit abgestuften niedrigen Keimmengen inokuliert. An die Anreicherung in den Bouillons schloß sich eine Keimzählung auf Campy-BAP (im Falle der Anreicherungsbouillon nach DOYLE und ROMAN) bzw. auf dem Preston - Festnährboden (im Falle der Preston-Anreicherungsbouillon nach BOLTON und ROBERTSON) an.
Jeder einzelne Teststamm wurde zweifach untersucht.

3.1.2.1 Übersicht über die Teststämme

Von den insgesamt 29 Teststämmen gehörten 22 zu der Species Campylobacter coli und 7 zu Campylobacter jejuni. 18 Stämme waren von Schweinen isoliert worden, 11 Stämme von an Enteritis erkrankten Menschen. Eine genauere Übersicht über die verwendeten Campylobacter jejuni / coli - Stämme und deren Herkunft bieten die Tabellen 3.1 und 3.2.

Tab. 3.1: Campylobacter coli - Teststämme

Stamm	Herkunft	
SK 108	Schwein (Kot)	BORNEMANN-ROHRIG [b] (1985)
SK 118	" "	"
WK 23	" "	"
SH 7	Schlachthalle (Schweineschlachtung)	"
Ku 13	Kuttelei	"
Gs 1	Schwein (Geschlinge)	"
NCTC[a]11353	Schwein (Placenta)	STICHT - GROH [c]
S 5	Schwein (Kot), Frischisolat	ALBER [d]
S 6	" " "	"
S 9	" " "	"
L 3	" " "	"
L 11	" " "	"
L 14	" " "	"
L 17	" " "	"
489	" " "	"
1289/80	Mensch (Enteritis)	STICHT - GROH [c]
006/80	" "	" "
6541/81	" "	" "
C 454	" "	HORBACH [e]
764	" "	"
2264/84	" "	"
762/85	" "	"

[a] National Collection of Type Cultures, London

[b] Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes Berlin

[c] Institut für Mikrobiologie und Hygiene an der Universität Würzburg

[d] Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes Berlin

[e] Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes Berlin

Tab. 3.2: Campylobacter jejuni - Teststämme

Stamm	Herkunft	
DG 2	Schwein (Gallenblase)	BORNEMANN-ROHRIG [c] (1985)
WG 2	" "	" "
H 6	Mensch (Enteritis)	HORBACH [d]
H 8	" "	"
PEN [a] 13	" "	TRESCHNAK [e]
PEN [a] 16	" "	"
NCTC [b] 11168	" "	STICHT - GROH [f]

[a] Serotyp 13 bzw. 16 im Serotypisierungsschema nach PENNER und HENNESSY (1980)

[b] National Collection of Type Cultures, London

[c] Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes Berlin

[d] Robert-Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes Berlin

[e] Institut für Mikrobiologie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

[f] Institut für Mikrobiologie und Hygiene an der Universität Würzburg

Die Zugehörigkeit sämtlicher Teststämme zu den Species C. jejuni bzw. C. coli wurde vor den Experimenten anhand der spezifischen kulturellen und biochemischen Kriterien (siehe unter 3.1.5.4) geprüft.

Mit Ausnahme der Frischisolate wurden alle anderen Stämme vor ihrer experimentellen Verwendung bei - 70 ^{o} C in Brucellabouillon mit 20 % Glycerinzusatz aufbewahrt. Nach dem Auftauen erfolgte eine mindestens dreifache Passagierung der Stämme, bevor sie als Teststämme eingesetzt wurden.

3.1.2.2 Medienzusammensetzung und -herstellung

Einen Oberblick über die Zusammensetzung der für die beiden verglichenen Anreicherungsverfahren benutzten Medien gibt Tab. 3.3.

Tab. 3.3: Medienzusammensetzung der beiden verglichenen Anreicherungsverfahren (I u. II)

	I	II
Anreicherungsmedium	DOYLE u. ROMAN (1982)	Preston-Medium (BOLTON u. ROBERTSON, 1982)
Basismedium	Brucellabouillon	Nährbouillon Nr. 2 (OXOID CM 67)
Blutzusatz (%)		
Pferdeblut, defibriniert, Saponin-hämolysiert	7	5
selektive Zusätze (mg/l)		
Trimethoprim	5	10
Polymyxin B (IU /l)	20 000	5 000
Vancomycin	15	
Rifampicin		10
Cycloheximid	50	100
weitere Zusätze (%)		
Na-succinat	0,3	
Cysteinhydrochlorid	0,01	
	I	II
Subkultivierungsmedium	Campy-BAP (BLASER et al.,1979)	Preston-Medium (BOLTON u. ROBERTSON, 1982)
Basismedium	Brucellaagar	Nährbouillon Nr. 2 + 1,2% New Zealand-Agar
Blutzusatz (%)		
Schafblut, defibriniert,	10	
Pferdeblut, defibriniert, Saponin-hämolysiert		5
selektive Zusätze (mg/l)		
Trimethoprim	5	10
Polymyxin B (IU /l)	2 500	5 000
Vancomycin	10	
Rifampicin		10
Cephalotin	15	
Amphotericin B	2	
Cycloheximid		100

Die verwendeten Medien wurden in der Nährbodenküche des Bundesgesundheitsamtes hergestellt.
Für den Zusatz des Pferdeblutes wurde von den Pferden "Egon" und "Goldi" (Versuchsgut Marienfelde) regelmäßig Blut genommen. Das Blut wurde in Schüttelblutflaschen, in denen ein geringer Unterdruck hergestellt worden war, gewonnen und durch anschließendes Schütteln der in der Flasche vorhandenen Glasperlen defibriniert. Die Hämolyse wurde mit 0,25 % * Saponin erzielt.
Schafblut (für Campy-BAP-Nährböden) wurde nach der gleichen Methode von Schafen des Bundesgesundheitsamtes gewonnen.

Die Antibiotika- bzw. Antimykotikalösungen wurden folgendermaßen hergestellt:
Trimethoprim (Impfstoffwerk Friesoythe) wurde zunächst in Äthylalkohol unter Schütteln vorgelöst, anschließend wurde die erforderliche Konzentration mit Aqua dest. eingestellt.
Rifampicin (Grünenthal) und Cycloheximid bzw. Actidion (Serva) wurde erst in n,n - Dimethylformamid gelöst, bevor mit Aqua dest. aufgefüllt wurde.
Von Polymyxin B (Pfizer), Vancomycin (Eli Lilly), Cephalotin (Glaxo) und Amphotericin B (von Heyden) wurden wäßrige Lösungen hergestellt.
Alle Antibiotika- bzw. Antimykotikalösungen wurden in ihrer Konzentration so eingestellt, daß auf 1 l Bouillon oder Agar jeweils 10 ml der Stammlösung dazugegeben werden mußten.
Bei Kühllagerung konnten die Lösungen des Trimethoprim und Polymyxin B 14 Tage, Vancomycin 4 Tage ohne Aktivitätsverlust aufbewahrt werden. Die Lösungen der anderen Substanzen wurden stets frisch angesetzt.

---

* OXOID Deutschland GmbH, Wesel
Schriftliche Mitteilung vom 27.6.1984

Vor der Verwendung der frisch hergestellten Festnährböden war es nötig, diese vorher gut abtrocknen zu lassen, da auf den nicht oder unzureichend abgetrockneten Platten insbesondere C. coli durch starkes Schwärmen sich zu ineinander verlaufenden Kolonien entwickelte und eine Auszählung einzelner Kolonien somit nicht mehr möglich war.

3.1.2.3 Kultivierungsbedingungen

Zur vergleichenden Untersuchung der beiden Anreicherungsmedien einschließlich der sich anschließenden selektiven Festnährböden wurde von folgendem Kultivierungsverfahren ausgegangen: Anreicherung über 24 Stunden, Bebrütung des Festnährbodens über 48 Stunden, jeweils bei einer Inkubationstemperatur von 43 ^{o} C. Die mikroaerobe Atmosphäre wurde mit CampyPak (BBL^{R}) - Gasentwicklertüten in Anaerobiertöpfen hergestellt.

3.1.2.4 Vorbereitung des Inokulums

Die verwendeten Stämme wurden vor der Beimpfung der beiden Anreicherungen auf Blutagarplatten 18 - 24 Stunden mikroaerob bei 43 ^{o} C inkubiert, dann in Brucellabouillon (mit 0,025 % FBP - Zusatz) überimpft, in der eine exakt 24stündige mikroaerobe Bebrütung bei ebenfalls 43 ^{o} C stattfand. Je nach angestrebter Inokulationsdichte wurde aus der entsprechenden Verdünnungsstufe dieser frisch bebrüteten Bouillon 1 ml in die Testmedien inokuliert.

3.1.2.5 Inokulation in keimfreie künstliche Nährmedien

Die beiden Anreicherungsmedien wurden nach ihrer Herstellung in Agglutinationsröhrchen zu je 5,0 ml abgefüllt und entweder am Herstellungstag oder höchstens einen Tag später verwendet.

Parallel zu den beiden Anreicherungsmedien wurde Brucellabouillon mit 7 % hämolysiertem Pferdeblut als nicht selektiv wirksame Bouillon, die auch in 5,0 ml-Portionen abgefüllt war, beimpft.

Zur Vorbereitung des Inokulums wurde die o.g. frisch bebrütete Brucellabouillon so weit in Kochsalz-Peptonwasser ausverdünnt, daß von einer Inokulationsdichte von 5 - 500 Campylobacter-Zellen pro ml Anreicherungsbouillon ausgegangen werden konnte. Die quantitative Bestimmung der tatsächlich vorhandenen Inokulationsdichte erfolgte im Plattentropfverfahren auf Schafblutagarplatten.

3.1.2.6 Reisolierungsversuche aus keimfreien künstlichen Nährmedien (quantitativ)

Nach Bebrütung der beiden selektiven Anreicherungen und der nicht selektiv wirksamen Brucellabouillon wurde im Verhältnis 1 : 10 in Kochsalz-Peptonwasser ausverdünnt und im Plattentropfverfahren sowohl auf die sich anschließenden Selektivnährböden als auch vergleichend auf nicht selektiv wirksame Schafblutagarplatten überimpft. Nach der Inkubation folgte eine Auszählung der reisolierten Keime.

3.1.2.7 Inokulation in Hackfleischaufbereitung

Beide Anreicherungsmedien wurden nach der Herstellung in 200 ml - Erlenmeyerkolben zu je 100,0 ml abgefüllt und entweder am Herstellungstag oder höchstens einen Tag später verwendet.

Hackfleisch wurde aus Schweinekammfleisch durch zweimaliges Durchdrehen durch einen Fleischwolf (Lochscheibe mit Lochgröße 4 mm) hergestellt. Vor dem Durchdrehen wurde das Fleisch ca. 1,5 Tage bei Kühlschranktemperatur gelagert, so daß anschließend von einer aeroben Gesamtkeimzahl von 10^5 - 10^7 pro g Hackfleisch ausgegangen werden konnte. Das Hackfleisch wurde in 25 g - Portionen abgewogen und für die folgenden Versuche im Gefrierschrank bei - 18 ^{o} C aufbewahrt.

Da sich in Vorversuchen zeigte, daß sich die Anreicherungsflüssigkeiten, in denen das Hackfleisch fein verteilt worden war, nach der Inkubation nicht mehr pipettieren ließen, wurde eine Hackfleischportion von 25 g zunächst in 100 ml Kochsalz-Peptonwasser eine Minute lang im "Stomacher" homogenisiert und anschließend durch eine 3-4lagige Gazeschicht filtriert. 25 ml wurden nun zu 100 ml Anreicherungsbouillon (1 : 5) gegeben.
Die aerobe Gesamtkeimzahl pro ml Hackfleischaufbereitung wurde auf Plate Count-Agar bei 30 ^{o} C nach 48 und 72 Stunden bestimmt.
Es wurde durch weitere Vorversuche mittels Anreicherung sichergestellt, daß das verwendete Fleisch nicht bereits durch originäre Besiedlung mit C. jejuni / coli kontaminiert war.

Das Inokulum wurde, wie bereits oben (3.1.2.4) beschrieben, vorbereitet. Es wurde so beimpft, daß von einer Inokulationsdichte zwischen 0,1 und 10 Campylobacter-Zellen pro ml Hackfleischaufbereitung ausgegangen werden konnte.
Nach Inokulation wurden die Erlenmeyerkolben in einem auf 43 ^{o} C eingestellten Wasserbad innerhalb von 20 - 30 Minuten auf die für die anschließende Bebrütung erforderliche Temperatur von 43 ^{o} C gebracht.

3.1.2.8 Reisolierungsversuche aus Hackfleischaufbereitung (semiquantitativ)

Die beiden über 24 Stunden bebrüteten Anreicherungsmedien wurden in Kochsalz-Peptonwasser im Verhältnis 1 : 10 ausverdünnt und im Spatelverfahren auf die jeweiligen Selektivnährböden überimpft. Es wurde bis zu einer Verdünnungsstufe von 10^{-4} ausgespatelt, so daß bei der anschließenden Keimzählung bis 10^{6} eine exakte Auszählung möglich war.

3.1.3 Modifikation der Preston-Anreicherungsmethodik zur Verbesserung des Nachweises von C. coli (Schwein)

Diese Modifikation betraf

1. die selektiven Zusätze in der Preston-Anreicherungsbouillon bzw. an Preston-Festnährboden,
2. die Inkubationsdauer der Preston-Anreicherungsbouillon.

Grundsätzlich wurde wie bei den unter 3.1.2 beschriebenen Modellversuchen vorgegangen (Reisolierungsversuche nach Inokulation in keimfreie künstliche Nährmedien bzw. in Hackfleischaufbereitung). Als C. coli - Teststämme dienten zunächst die Stämme SK 108 und WK 23.
Zur weiteren Untersuchung der mit diesen beiden Stämmen vorgeprüften um Polymyxin B reduzierten Form des Preston-Mediums wurden die Stämme SK 118, SH 7, Ku 13, Gs 1, L 17, S 5 und 489 herangezogen.
Die Ergebnisse wurden für jeden der genannten C. coli - Stämme durch einen Wiederholungsansatz abgesichert.

Untersuchungen zum Vorkommen von C. jejuni / coli in Hackfleisch und auf Innereien (Schwein)

3.1.4 Untersuchung von Hackfleischhandelsproben (Schwein)

Vom 27.8.-6.9.1985 wurden in 32 Berliner Fleischerfachgeschäften und Frischfleischabteilungen von Supermärkten insgesamt 65 Schweinehackfleischproben zu je 100 g beschafft. Der Transport der Proben erfolgte in einer Kühltasche. Unmittelbar nach der Probenbeschaffung wurden dieselben angesetzt.

3.1.4.1 Mikrobiologische Aufarbeitung der Hackfleischhandelsproben

Je Probe wurde 25 g mit vorher sterilisierten Löffeln entnommen und in einen 18 x 30,5 cm großen Polyäthylenbeutel gegeben. Dieser wurde mit 100,0 ml der modifizierten, d.h. um Polymyxin B reduzierten Form der Preston-Anreicherungsbouillon aufgefüllt. Anschließend wurde das Hackfleisch in der Bouillon 1 Minute im Stomacher behandelt. Beim Einlegen des Beutels in den Stomacher wurde darauf geachtet, daß die über dem Bouillon-Hackfleisch-Gemisch vorhandene Luft im Beutel weitgehend durch plattes Andrücken des Beutels an die Vorderklappe des Stomachers entfernt wurde, um dadurch eine Sauerstoffanreicherung im Medium beim Verteilungsprozeß zu vermeiden.
Wie bereits bei den Modellversuchen (3.1.2.7) wurden die in 200 ml - Erlenmeyerkolben überführten Probenansätze im Wasserbad bei 43 ^{o} C auf die anschließende Bebrütungstemperatur von 43 ^{o} C gebracht.
Die weiteren Kultivierungsbedingungen entsprechen den unter 3.1.2.3 genannten.
Da im Unterschied zu den Modellversuchen nicht von einer durch Filtern entstandenen Hackfleischaufbereitung (siehe 3.1.2.7) ausgegangen wurde, sondern das Hackfleisch nun in der Bouillon mitgebrütet wurde, wurde der pH-Wert nach Inkubation der Anreicherung überprüft.

Aus der bebrüteten Bouillon wurde mit einer 3 mm - Öse ein fraktionierter Ausstrich auf die modifizierte, d.h. um Polymyxin B reduzierte Form des Preston-Festnährbodens durchgeführt.

Zur Kontrolle der Medien einschließlich der Methodik wurde von dem campylobacterfreien Hackfleisch aus den Modellversuchen eine 25 g - Portion mit einem C. coli (Schwein) - Isolat zur Positivkontrolle inokuliert. Die Inokulation erfolgte wie unter 3.1.2.7 beschrieben.
Bei der Auswertung der Nährböden wurde von verdächtigen Kolonien ein "hängender Tropfen" zur Prüfung der charakteristischen Morphologie und Motilität von Campylobacter angefertigt.
Zur weiteren Differenzierung wurden die verdächtigen Isolate in die Stammsammlung aufgenommen.

3.1.5 Untersuchung von Schweineherz, -leber und -niere aus dem Handel

3.1.5.1 Organe aus einer Berliner Innereiengroßhandlung

In einer Innereiengroßhandlung des Berliner Fleischgroßmarktes wurden 15 Schweineherzen, 28 Teilstücke von Schweinelebern und 20 Schweinenieren am 30.9. und 8.10.1985 zur Untersuchung auf Campylobacter entnommen. Die insgesamt 63 Innereienproben stammten zum Teil aus Lieferungen aus Westfalen, zum Teil auch vom Schlachthof Berlin-Spandau. Die Tiere, deren Organe hier vorlagen, waren am frühen Morgen des Probenentnahmetages oder am Vortag geschlachtet worden. Die Innereien werden üblicherweise als Geschlinge angeliefert und in der Großhandlung nach Ablösung der unterschiedlichen Organe in Aluminium- oder Kunststoffbehälter einsortiert.
Pro Behälter wurden 3-4 an unterschiedlichen Stellen liegende Organe in sterile Polyäthylenbeutel durch Umstülpen dieser Beutel aufgenommen. Die Leberteilstücke wurden mit einem Messer, das nach jeder Probe mit feuchtem Zellstoff gereinigt und mit Spiritus abgeflammt wurde, abgeschnitten und ebenfalls in sterile Polyäthylenbeutel verpackt.

Zusätzlich zu den Innereienproben bot sich die Gelegenheit, Tupferproben von den Händen zweier Arbeiter der Innereiengroßhandlung zu nehmen, außerdem konnte eine weitere Tupferprobe von der Oberfläche eines Arbeitsbrettes genommen werden.

Der Probentransport erfolgte in Kühltaschen, die Probenaufarbeitung unmittelbar nach der Probenentnahme.

3.1.5.2 Organe aus Berliner Einzelhandelsgeschäften

Vom 17.9.-10.10.1985 wurden in 32 verschiedenen Berliner Fleischerfachgeschäften bzw. Frischfleischabteilungen von Supermärkten insgesamt 68 Schweineinnereienproben (26 Leberteilstücke, 21 Herzen und 21 Nieren) beschafft.
Der Transport der Proben erfolgte in Kühltaschen, die Aufarbeitung der Proben wurde direkt nach der Beschaffung vorgenommen.

3.1.5.3 Mikrobiologische Aufarbeitung der Innereienproben

Die Oberfläche der Organproben wurde mit trockenen Baumwolltupfern (Fa. Greiner) sorgfältig abgestrichen, danach wurden diese Tupfer auf modifizierte Preston-Festnährböden ausgestrichen (Direktnachweis).
Für die Untersuchung mittels Anreicherung wurde zu Leberteilstücken (25 g), ganzen Herzen und Nieren, die sich in Polyäthylenbeuteln befanden, jeweils 100,0 ml modifizierte (d.h. Polymyxin B-freie) Preston-Anreicherungsbouillon gegeben. Nach der von KERSCHNER (1980) beschriebenen Methode wurde nun durch 30 Sekunden andauerndes Abmassieren der im Beutel befindlichen Probe der Keimgehalt der Organproben in der Anreicherung abgespült. Danach wurde diese Spülflüssigkeit in 200 ml - Erlenmeyerkolben abgegossen, im Wasserbad rasch auf 43 ^{o} C erwärmt und dann bebrütet. Nach der Inkubation wurde mit einer 3 mm - Öse fraktioniert auf den modifizierten (d.h. Polymyxin B-freien) Preston-Festnährboden ausgestrichen.

Aufgrund stärkerer pH-Wertveränderungen der Anreicherungsbouillon bei Mitbebrütung der Organprobe in der Anreicherung, insbesondere bei Leberproben, wurde grundsätzlich nur die Spülflüssigkeit bebrütet. Diese wurde nach der Inkubation stets einer Kontrolle des pH-Wertes unterzogen.

Die Auswertung der inkubierten Preston-Festnährböden aus dem Direktnachweisverfahren wie auch aus dem Anreicherungsverfahren wurde folgendermaßen vorgenommen:
Verdächtige Kolonien wurden im "hängenden Tropfen" auf die charakteristische Morphologie und Motilität von Campylobacter geprüft und - im positiven Fall - in die Stammsammlung aufgenommen.

3.1.5.4 Differenzierung der Isolate

Nach den von ULLMANN (1979) beschriebenen Methoden wurden die Isolate auf Katalase- und Oxidaseaktivität und auf die Fähigkeit, bei 43 °C zu wachsen, bei 25 °C jedoch nicht, untersucht. Die Nalidixinsäuresensibilität und Cephalotinresistenz wurde auf Müller-Hinton-Agar mit Testblättchen (OXOID) geprüft. Der Hippurattest wurde unter Anwendung der Methode von HARVEY (1980) nach HWANG und EDERER (1975) durchgeführt, wobei nur eine kräftig blauviolette Verfärbung als positiv gewertet wurde.

3.2 Ergebnisse

Untersuchungen zur Anreicherungsmethodik von C. jejuni / coli

3.2.1 Ergebnisse aus Vorversuchen zum Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN

1. Die von DOYLE und ROMAN (1982) vorgeschlagene Methodik konnte mit Erfolg nachvollzogen werden. Beachtlich aber war der dazu nötige Aufwand.
2. Bei Anwendung der für Praxisverhältnisse vereinfachten Methodik waren Reisolierungen in sämtlichen Versuchsansätzen mit kontinuierlichem Schütteln nicht mehr möglich. Der Parallelansatz ohne Schütteln brachte jedoch Reisolierungsergebnisse.

3.2.2 Ergebnisse der Modellversuche zum Vergleich der beiden untersuchten Anreicherungsverfahren (Tab. 3.4 u. 3.5)

1. Die Ergebnisse aus den Reisolierungsversuchen nach Inokulation künstlicher keimfreier Nährmedien (Tab. 3.4) entsprechen weitgehend den Reisolierungsexperimenten nach Inokulation in Hackfleischaufbereitung (Tab. 3.5).
2. Es zeigte sich bei der vergleichend auf Selektiv- wie auch Nichtselektivnährböden durchgeführten Reisolierung (Tab. 3.4), daß auf der Ebene der Selektivnährböden keine inhibitorischen Effekte mehr erfolgten.
3. Für die vom S c h w e i n stammenden C. c o l i - Isolate war in beiden Anreicherungsverfahren eine vollständige Hemmung zu verzeichnen, so daß eine Reisolierung nicht mehr möglich war.
   Dieser Hemmeffekt war im Bereich der geprüften Inokulationsdichte (ca. 0,1 - 100 Campylobacter-Zellen pro ml Anreicherungsbouillon bzw. Hackfleischaufbereitung) unabhängig von der Größe des Inokulums.

4. Der mit den C. coli (Schwein) - Frischisolaten durchgeführte Versuchsansatz zeigte, daß die beobachtete vollständige Hemmung der vom Schwein stammenden C. coli - Isolate nicht durch Gefrierschädigung oder durch häufiges Passagieren, was zu einer Vitalitätsabnahme der Stämme hätte führen können, bedingt war.

5. Die von an Enteritis erkrankten Menschen isolierten C. coli - Stämme verhielten sich deutlich anders als die C. coli - Isolate vom Schwein. Im Falle der Stämme C 454 und 2264/84 war grundsätzlich in beiden Anreicherungsverfahren die Reisolierung möglich, im Falle der Stämme 1289/80 und 6541/81 allerdings gelang dies nur mit der Preston-Anreicherungsmethodik.
   Das Verhalten der als C. coli übersandten Stämme 006/80, 764 und 762/85 entsprach eher C. jejuni-Stämmen. Die Zugehörigkeit zu dieser Species ließ sich auch durch mehrfache Überprüfung im Hippurattest bestätigen. Es stellte sich dabei heraus, daß ein positives Ergebnis im Hippurattest die Verwendung eines großen Inokulums (dicke Öse), das zudem ausreichend in der Hippuratlösung suspendiert werden mußte, voraussetzte.

6. Die verwendeten C. jejuni - Stämme vermehrten sich in beiden Medien gut. Unterschiede bezüglich ihrer Herkunft (Schwein , Mensch) waren dabei nicht zu beobachten.

7. Die Nachweissensibilität beider Verfahren lag im Bereich von 0,1 - 1 Campylobacter-Zelle pro ml Hackfleischaufbereitung.

8. Bei den Experimenten in Anwesenheit einer Hackfleischflora (aerobe Gesamtkeimzahl bis zu 10^7 pro ml Hackfleischaufbereitung) erwiesen sich beide Anreicherungsmethoden als sehr gut wirksam in ihrer Selektivität gegenüber der Begleitflora. Nur vereinzelt kam es auf den Preston-Festnährboden zum Wachstu von E. coli oder Streptococcus spp., auf Campy-BAP traten ausnahmsweise Proteus spp. auf.

b. 3.4: Ergebnisse der Reisolierungsversuche nach Inokulation von Campylobacter jejuni/coli - Teststämmen in keimfreie künstliche Medien

Teststamm	inokulierte Campylobacter-Zellen [a]	reisolierte Campylobacter-Zellen				
		nicht selektive Anreicherung [b]	Anreicherung n. DOYLE u. ROMAN, subkultiviert auf		Preston-Anreicherung n. BOLTON u. ROBERTSON, subkult. auf	
		Blutagar	Blutagar	Campy-BAP	Blutagar	Preston-Platt.
C. coli (Schwein)						
SK 108	$4{,}6 \times 10^1$	$9{,}5 \times 10^7$	- [c]	-	-	-
SK 118	$2{,}8 \times 10^2$	$1{,}5 \times 10^8$	-	-	-	-
WK 23	$8{,}2 \times 10^1$	$5{,}1 \times 10^7$	-	-	-	-
SH 7	$1{,}6 \times 10^2$	$8{,}3 \times 10^7$	-	-	-	-
Ku 13	$2{,}0 \times 10^2$	$4{,}2 \times 10^6$	-	-	-	-
Gs 1	$3{,}9 \times 10^1$	$6{,}1 \times 10^7$	-	-	-	-
NCTC 11353	$6{,}3 \times 10^1$	$2{,}7 \times 10^7$	-	-	-	-
C. coli (Schwein, Frischisolat)						
S 5	$2{,}7 \times 10^1$	$1{,}1 \times 10^7$	-	-	-	-
S 6	$2{,}3 \times 10^1$	$5{,}0 \times 10^5$	-	-	-	-
S 9	$2{,}2 \times 10^0$	$6{,}3 \times 10^5$	-	-	-	-
L 3	$1{,}9 \times 10^1$	$6{,}6 \times 10^5$	-	-	-	-
L 11	$1{,}7 \times 10^1$	$2{,}4 \times 10^6$	-	-	-	-
L 14	$1{,}8 \times 10^1$	$3{,}3 \times 10^4$	-	-	-	-
L 17	$1{,}4 \times 10^2$	$2{,}5 \times 10^7$	-	-	-	-
489	$8{,}7 \times 10^0$	$3{,}6 \times 10^6$	-	-	-	-
C. coli (Mensch, Enteritis)						
006/80	$5{,}2 \times 10^1$	$3{,}8 \times 10^7$	$7{,}8 \times 10^6$	$8{,}2 \times 10^6$	$1{,}5 \times 10^7$	$1{,}3 \times 10^7$
1289/80	$9{,}8 \times 10^0$	$4{,}9 \times 10^6$	-	-	$9{,}8 \times 10^3$	$9{,}2 \times 10^3$
6541/81	$1{,}5 \times 10^1$	$1{,}5 \times 10^6$	-	-	$6{,}2 \times 10^3$	$6{,}0 \times 10^3$
C 454	$7{,}3 \times 10^0$	$2{,}3 \times 10^6$	$3{,}2 \times 10^3$ [d]	$2{,}5 \times 10^3$	$6{,}9 \times 10^4$	$6{,}3 \times 10^4$
764	$3{,}5 \times 10^0$	$2{,}4 \times 10^5$	$1{,}5 \times 10^6$	$1{,}3 \times 10^6$	$4{,}7 \times 10^5$	$7{,}5 \times 10^5$
2264/84	$8{,}2 \times 10^0$	$8{,}2 \times 10^6$	$9{,}5 \times 10^5$	$4{,}8 \times 10^5$	$1{,}6 \times 10^5$	$1{,}5 \times 10^5$
762/85	$7{,}1 \times 10^1$	$4{,}4 \times 10^6$	$5{,}5 \times 10^6$	$9{,}5 \times 10^6$	$5{,}7 \times 10^7$	$3{,}8 \times 10^7$
C. jejuni (Schwein)						
DG 2	$2{,}1 \times 10^1$	$9{,}5 \times 10^7$	$3{,}7 \times 10^7$	$3{,}0 \times 10^7$	$1{,}0 \times 10^8$	$1{,}0 \times 10^8$
WG 23	$1{,}2 \times 10^2$	$1{,}0 \times 10^6$	$1{,}0 \times 10^4$	$3{,}0 \times 10^4$	$2{,}6 \times 10^5$	$2{,}5 \times 10^5$
C. jejuni (Mensch, Enteritis)						
H 6	$2{,}9 \times 10^1$	$1{,}5 \times 10^6$	$4{,}5 \times 10^4$	$4{,}3 \times 10^4$	$9{,}3 \times 10^5$	$1{,}1 \times 10^6$
H 8	$7{,}7 \times 10^1$	$5{,}0 \times 10^6$	$1{,}4 \times 10^7$	$1{,}3 \times 10^7$	$3{,}9 \times 10^7$	$5{,}4 \times 10^7$
PEN 13	$8{,}6 \times 10^1$	$8{,}4 \times 10^6$	$8{,}7 \times 10^5$	$7{,}1 \times 10^6$	$1{,}0 \times 10^6$	$1{,}7 \times 10^6$
PEN 16	$7{,}8 \times 10^0$	$1{,}9 \times 10^7$	$3{,}8 \times 10^7$	$3{,}3 \times 10^7$	$7{,}9 \times 10^6$	$9{,}0 \times 10^6$
NCTC 11168	$1{,}2 \times 10^2$	$1{,}4 \times 10^8$	$1{,}3 \times 10^8$	$1{,}0 \times 10^8$	$6{,}2 \times 10^7$	$7{,}0 \times 10^7$

pro ml Anreicherungsbouillon
Brucellabouillon + 7 % Pferdeblut
< 10 Zellen pro ml (Nachweisgrenze der Methode)

[d] Reduzierung der in der nicht selektiven Anreicherung erzielten Keimdichte um ca.
> 0,5 Zehnerpotenzen: · · · ·
> 1,0 Zehnerpotenzen: —·—·—·—
> 1,5 Zehnerpotenzen: - - - - - - - -
> 2,0 Zehnerpotenzen: ————————

Tab. 3.5: Ergebnisse der Reisolierungsversuche nach Inokulation von Campylobacter jejuni/coli - Te
stämmen in Hackfleischaufbereitung [a]

Teststamm	Ausgangskeimgehalt aerobe GKZ [b]	Ausgangskeimgehalt inokulierte Campylobacter-Zellen [c]	reisolierte Campylobacter-Zellen Anreicherung nach DOYLE u. ROMAN	reisolierte Campylobacter-Zellen Preston-Anreicherung nach BOLTON u. ROBERTSON
C. coli (Schwein)				
SK 108	$4{,}1 \times 10^6$	6,6	- [e]	-
SK 118	$4{,}1 \times 10^6$	0,4	-	-
WK 23	$4{,}1 \times 10^6$	0,5	-	-
SH 7	$6{,}2 \times 10^6$	0,8	-	-
Ku 13	$6{,}2 \times 10^6$	$1{,}9 \times 10$	-	-
Gs 1	$4{,}1 \times 10^6$	$1{,}2 \times 10$	-	-
NCTC 11353	$4{,}5 \times 10^6$	$1{,}4 \times 10$	-	-
C. coli (Schwein, Frischisolat)				
S 5	$1{,}4 \times 10^6$	2,1	-	-
S 6	$2{,}0 \times 10^6$	4,7	-	-
S 9	$2{,}0 \times 10^6$	1,3	-	-
L 3	$2{,}0 \times 10^6$	0,5	-	-
L 11	$2{,}0 \times 10^6$	6,0	-	-
L 14	$1{,}4 \times 10^6$	0,8	-	-
L 17	$4{,}1 \times 10^6$	0,8	-	-
489	$4{,}1 \times 10^6$	9,5	-	-
C. coli (Mensch, Enteritis)				
006/80	$4{,}5 \times 10^6$	1,3	$> 10^6$	$> 10^6$
1289/80	$1{,}4 \times 10^6$	4,1	-	$1{,}1 \times 10^4$
6541/81	$1{,}4 \times 10^6$	8,4	-	$5{,}7 \times 10^3$
C 454	$4{,}1 \times 10^6$	6,2	$4{,}0 \times 10$	$2{,}0 \times 10^4$
764	$6{,}2 \times 10^6$	3,4	$6{,}7 \times 10^2$	$> 10^6$
2264/84	$4{,}5 \times 10^6$	0,7	$9{,}8 \times 10^3$	$> 10^6$
762/85	$1{,}4 \times 10^6$	6,2	$> 10^6$	$> 10^6$
C. jejuni (Schwein)				
DG 2	$6{,}2 \times 10^6$	4,6	$7{,}5 \times 10^5$	$> 10^6$
WG 23	$1{,}4 \times 10^6$	3,0	$> 10^6$	$1{,}3 \times 10^6$
C. jejuni (Mensch, Enteritis)				
H 6	$6{,}2 \times 10^6$	7,1	$1{,}2 \times 10^3$	$> 10^6$
H 8	$1{,}4 \times 10^6$	1,9	$> 10^6$	$> 10^6$
PEN 13	$4{,}1 \times 10^6$	0,6	$4{,}0 \times 10^2$	$2{,}2 \times 10^3$
PEN 16	$4{,}5 \times 10^6$	0,3	-	$2{,}3 \times 10^4$
NCTC 11168	$4{,}5 \times 10^6$	4,5	$> 10^6$	$> 10^6$

[a] Filtrat eines Hackfleisch-Kochsalz-Peptonwasser-Gemisches (1:5)
[b] Gesamtkeimzahl pro ml Hackfleischaufbereitung
[c] pro ml Hackfleischaufbereitung
[d] pro ml Anreicherungsbouillon
[e] < 10 Zellen pro ml (Nachweisgrenze der Methode)

3.2.3 Modifikation der Preston-Anreicherungsmethodik zur Verbesserung des Nachweises von C. coli (Schwein)

Die bisher weder im Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN (1982) noch im Preston - Anreicherungsverfahren nach BOLTON und ROBERTSON (1982) gewachsenen C. c o l i - S t ä m m e (S c h w e i n) wurden nun anhand ausgewählter Stämme in verschiedenen Modifikationen der Preston - Anreicherungsmethodik untersucht.

3.2.3.1 Ergebnisse aus Reisolierungsversuchen nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen in Modifikationen der Preston-Anreicherungsbouillon (Tab. 3.6)

1. Bei der von BOLTON und ROBERTSON (1982) vorgeschlagenen Dosierung der selektiven Zusätze im Preston-Medium führte auch eine 3-4fache Steigerung der Inkubationsdauer (Preston-Anreicherungsbouillon) nicht zur Vermehrung von C. coli - Isolaten, die vom Schwein stammten.
2. Allein die vollständige Reduktion von Polymyxin B führte zur Vermehrung dieser Stämme.

Tab. 3.6: Ergebnisse der Reisolierungsversuche nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen [a] in Modifikationen der Preston-Anreicherungsbouillon

P[b]- Modifikationen	Inkubationszeit 24 Std.	42-91 Std.	reisolierte Campylobacter-Zellen[c]
P (Dosis aller selektiven Zusätze um 25 % reduziert)	+		- [d]
P (Polymyxin B um 50 % reduziert)	+		-
P (ohne Polymyxin B)	+		$1{,}3 \times 10^7$ [e] $3{,}1 \times 10^7$ [f]
P (Rifampicin um 25 % reduziert	+		-
P (Rifampicin um 50 % reduziert	+		-
P (ohne Rifampicin)	+		-
P (ohne Trimethoprim)	+		-
P (ohne Cycloheximid)	+		-
P (ohne alle selektiven Zusätze)	+		$1{,}1 \times 10^7$ [e] $3{,}2 \times 10^7$ [f]
P (original)	+		-
P "		42	-
P "		48	-
P "		91	-

[a] Teststamm SK 108 mit 9,1 Zellen pro ml Bouillon inokuliert
" WK 23 " 8,0x10 " " " " "

[b] Preston-Anreicherungsbouillon

[c] pro ml Anreicherungsbouillon, subkultiviert auf Blutagar

[d] < 10 Zellen pro ml (Nachweisgrenze der Methode)

[e] Teststamm SK 108

[f] Teststamm WK 23

3.2.3.2 Ergebnisse aus den Reisolierungsversuchen nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen in Hackfleischaufbereitung in Abhängigkeit von Modifikationen des Preston-Mediums (Tab. 3.7)

1. Eine vollständige Reduktion des Polymyxin B bei gleichbleibenden Konzentrationen von Rifampicin, Trimethoprim und Actidion ergab eine noch ausreichende selektive Wirkung gegenüber der Hackfleisch-Begleitflora. Der aerobe Gesamtkeimgehalt pro ml Hackfleischaufbereitung wurde um ca. 3-4 Zehnerpotenzen reduziert, so daß es keine Schwierigkeiten bereitete, die zahlenmäßig überwiegenden, für Campylobacter typischen Kolonien, zu erkennen. Die Kontaminationskeime waren vorwiegend E. coli, Pseudomonas spp. und Streptococcus spp..
2. Die Polymyxin B - Empfindlichkeit der geprüften C. coli - Isolate vom Schwein war so ausgeprägt, daß die zunächst in der Polymyxin B - freien Bouillon gewachsenen Keime beim anschließenden Ausstrich auf den Polymyxin B - haltigen Preston-Festnährboden in ihrer Keimdichte um 4-6 Zehnerpotenzen vermindert wurden.
3. Eine Verlängerung der Inkubationsdauer der Bouillon um weitere 24 Stunden (insgesamt 48 Stunden) führte nur in den untersten Polymyxin B - Konzentrationen (1,0-1,5 IU/ml Bouillon bzw. Agar) zur Vermehrung der empfindlichen Isolate.

Tab. 3.7: Ergebnisse der Reisolierungsversuche nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen [a] in Hackfleischaufbereitung [b] in Abhängigkeit von Modifikationen des Preston-Mediums

P [c]- Modifikationen	Inkubationszeit 24 Std.	Inkubationszeit 48 Std.	reisolierte Campylobacter-Zellen [d] analog modifizierte Preston-Platten (P_{1-6})	reisolierte Campylobacter-Zellen [d] originale Preston-Platten
P_1 (Polymyxin B um 60 % reduziert)	+		- [e]	-
		+	- [f]	-
			$2{,}0 \times 10^2$ [g]	
P_2 (Polymyxin B um 70 % reduziert)	+		-	-
		+	$3{,}8 \times 10^4$ [i]	-
			$5{,}8 \times 10^4$ [i]	
P_3 (Polymyxin B um 80 % reduziert)	+		$> 10^6$ [j]	$1{,}3 \times 10^2$
			-	-
		+	$> 10^6$	$2{,}0 \times 10^2$
P_4 (ohne Polymyxin B)	+		$> 10^6$	$3{,}8 \times 10$
				$8{,}2 \times 10^2$
		+	n.d. [h]	n.d.
P_5 (ohne Polymyxin B, Trimethoprim um 100 % erhöht)	+		$> 10^6$	$2{,}0 \times 10$
				$2{,}7 \times 10^2$
		+	$> 10^6$	$3{,}0 \times 10$
				$3{,}2 \times 10^2$
P_6 (ohne Polymyxin B, Rifampicin um 100 % erhöht)	+		$> 10^6$	$1{,}0 \times 10$
		+	$> 10^6$	$3{,}5 \times 10$
				$1{,}2 \times 10^2$

[a] Teststamm SK 108 mit 11,1 Zellen pro ml Hackfleischaufbereitung inokuliert,
" WK 23 " $1{,}4 \times 10^2$ " " " " "

[b] Filtrat eines Hackfleisch-Kochsalz-Peptonwasser-Gemisches (1:5), aerobe Gesamtkeimzahl pro ml Hackfleischaufbereitung: $8{,}2 \times 10^5$

[c] Preston - Anreicherungsbouillon

[d] pro ml Anreicherungsbouillon

[e] < 10 Zellen pro ml (Nachweisgrenze der Methode)

[f] Teststamm SK 108

[g] Teststamm WK 23

[h] nicht durchgeführt

[i] mäßige Reisolierungsergebnisse

[j] gute Reisolierungsergebnisse

3.2.3.3 Ergebnisse der Reisolierungsversuche nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen in Hackfleischaufbereitung bei Verwendung der Polymyxin B - freien Modifikation des Preston-Mediums (Tab. 3.8)

1. Das sog. m o d i f i z i e r t e P r e s t o n - M e d i u m (Preston-Bouillon und Preston-Festnährboden um Polymyxin B reduziert) ermöglichte auch für C. Coli - Stämme vom Schwein die Reisolierung.
2. Das auffallend häufige Vorkommen von Reinkulturen auf den modifizierten Preston-Platten nach Anreicherung der inokulierten Hackfleischaufbereitung ließ erkennen, daß durch Beseitigung des Polymyxin B bedingten inhibitorischen Effektes nahezu optimale Vermehrungsbedingungen für diese Campylobacterstämme bestanden und dadurch die Begleitflora - neben der Wirkung der nun insgesamt reduzierten selektiven Zusätze - kompetitiv zurückgedrängt wurde.
3. Die Nachweisgrenze lag bei 0,1 Campylobacter-Zelle pro ml Hackfleischaufbereitung. Als absolute Keimzahl, die die Nachweisgrenze bildet, ist deshalb ein Wert von 2,5 Campylobacter-Zellen anzugeben.

Tab. 3.8: Ergebnisse der Reisolierungsversuche nach Inokulation von C. coli (Schwein) - Teststämmen in Hackfleischaufbereitung [a] bei Verwendung der Polymyxin B - freien Modifikation des Preston-Mediums

Teststamm	inokulierte Campylobacter-Zellen [b]	reisolierte Campylobacter-Zellen [c]
SK 118	0,3	$1,4 \times 10^5$
SH 7	0,4	$> 10^6$
Ku 13	2,7	$> 10^6$
	0,3	$4,2 \times 10^5$
Gs 1	1,2	$> 10^6$
	0,1	- [d]
L 17	3,2	$> 10^6$
	0,3	$> 10^6$
S 5	1,3	$> 10^6$
	0,1	$1,9 \times 10^5$
489	1,6	$> 10^6$
	0,2	$> 10^6$

[a] Filtrat eines Hackfleisch-Kochsalz-Peptonwasser-Gemisches (1:5), aerobe Gesamtkeimzahl pro ml Hackfleischaufbereitung: $1,3 \times 10^6$

[b] pro ml Hackfleischaufbereitung

[c] pro ml Anreicherungsbouillon, subkultiviert auf Polymyxin B - freien Preston-Festnährboden

[d] 10 Zellen pro ml (Nachweisgrenze der Methode)

Untersuchungen zum Vorkommen von C. jejuni / coli in Hackfleisch und auf Innereien (Schwein)

3.2.4 Campylobacter-Nachweis in Hackfleischhandelsproben (Schwein)

Von den insgesamt 65 Hackfleischhandelsproben konnte in keiner (0 %) Campylobacter jejuni/coli nachgewiesen werden.

3.2.5 Campylobacter-Nachweis auf Schweineherz, -leber und -niere

Wie Tab. 3.9 und Abb. 3.1 zeigen, wiesen die Organproben aus der Innereiengroßhandlung, verglichen mit den Proben aus dem Einzelhandel, im Direktnachweis (11,1 % gegenüber 1,5 %) und in der Anreicherung (68,3 % gegenüber 23,5 %) eine wesentlich höhere Kontaminationsrate auf.

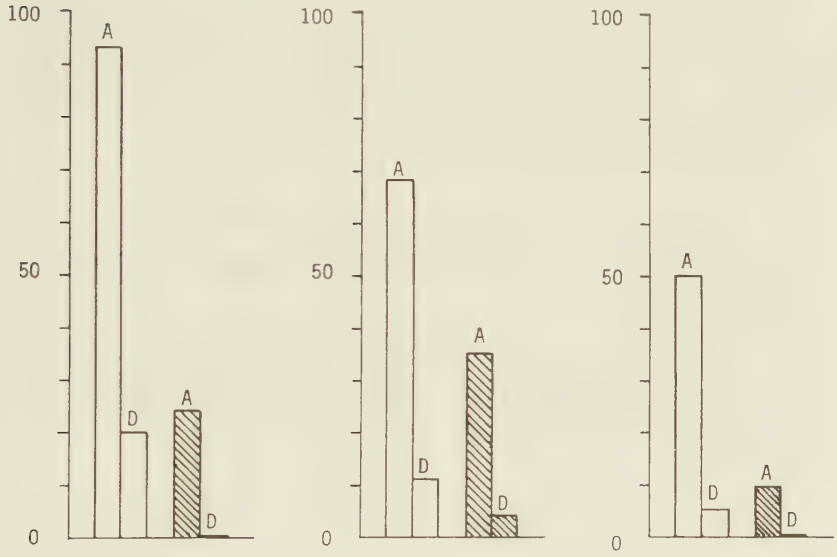
Tab. 3.9: Campylobacter-Nachweis auf Schweineinnereienproben aus einer Innereiengroßhandlung und dem Einzelhandel in Berlin

Organ / Vermarktungsstufe G = Großhandel E = Einzelhandel		n	Direktnachweis [a] positiv n / %	Anreicherung [b] positiv n / %
Herz	G	15	3 20,0	14 93,3
	E	21	0 0	5 23,8
Leber	G	28	3 10,7	19 67,9
	E	26	1 3,9	9 34,6
Niere	G	20	1 5,0	10 50,0
	E	21	0 0	2 9,5
S u m m e	G	63	7 11,1	43 68,3
	E	68	1 1,5	16 23,5

[a] Nachweisgrenze bei ca. 400 CFU/Tupferprobe (25 g Leber, ganzes Herz, ganze Niere)

[b] Nachweisgrenze bei ca. 2,5 CFU/Spülprobe (25 g Leber, ganzes Herz, ganze Niere)

Abb. 3.1: Campylobacter-Nachweis auf Schweineinnereienproben aus einer Innereiengroßhandlung und 32 Einzelhandelsgeschäften in Berlin



□ % positive Proben (Großhandel)

▨ % positive Proben (Einzelhandel)

A = Anreicherung (modifiziertes Preston-Medium)
D = Direktnachweis (modifiziertes Preston-Medium)
n_G= Anzahl der untersuchten Großhandelsproben
n_E= Anzahl der untersuchten Einzelhandelsproben

3.2.5.1 Untersuchungsergebnisse der Proben aus der Innereiengroßhandlung

An beiden Tagen der Probenentnahme (Tab. 3.10) wurde mittels Anreicherung eine vergleichbare Nachweishäufigkeit und -verteilung auf die verschiedenen Organarten gefunden. Im Direktnachweis ergaben sich in der Nachweishäufigkeit an den beiden Probentagen Abweichungen von bis zu 15 %.
Die Kontaminationsrate nahm in der Reihenfolge Herz, Leber, Niere ab.
Mit Ausnahme einer einzigen Leberprobe trat sonst ein positiver Direktnachweis stets in Verbindung mit einem positiven Anreicherungsergebnis auf.
Die Tupferproben, die von den Händen zweier in der Innereiengroßhandlung beschäftigter Arbeiter genommen wurden, sowie auch die von der Oberfläche eines Arbeitsbrettes gewonnene Probe fielen ausschließlich in der Anreicherung positiv aus (Tab. 3.11).

Tab. 3.10: Campylobacter-Nachweis auf Organproben aus einer Innereiengroßhandlung an zwei Probeentnahmetagen

Probentag	Organ	n	Direktnachweis [a] positiv n / %		Anreicherung [b] positiv n / %	
30.9.85	Herz	11	2	18,2	10	90,9
	Leber	13	2	15,4	8	61,5
	Niere	7	1	14,3	4	57,1
	Summe	31	5	16,1	22	71,0
8.10.85	Herz	4	1	25,0	4	100,0
	Leber	15	1	6,7	11	73,3
	Niere	13	0	0	6	46,2
	Summe	32	2	6,3	21	65,6
Gesamtsumme		63	7	11,1	43	68,3

[a] Nachweisgrenze ca. 400 CFU/Tupferprobe (25 g Leber, ganzes Herz, ganze Niere)

[b] Nachweisgrenze ca. 2,5 CFU/Spülprobe (25 g Leber, ganzes Herz, ganze Niere)

Tab. 3.11: Campylobacter-Nachweis bei Arbeitern und auf der Oberfläche eines Arbeitsbrettes in der Innereiengroßhandlung mittels Tupferprobe (8.10.85)

Proben [a]	Direktausstrich	Anreicherung
Hände Arbeiter A	-	C. coli
Hände Arbeiter B	-	C. coli
Arbeitsbrett	-	C. jejuni

[a] je Probe wurde ein Tupfer verwendet

3.2.5.2 Untersuchungsergebnisse der Proben aus dem Einzelhandel

Am häufigsten waren Lebern kontaminiert, danach folgten in der Kontaminationsrate Herz und Niere (Tab. 3.9).

3.2.5.3 Differenzierung der Isolate

Von den 59 auf inneren Organen isolierten Campylobacterstämmen gehörten 40 (67,8 %) der Species C. coli an, die übrigen 19 (32,2 %) waren C. jejuni - Stämme (Tab. 3.12).

Tab. 3.12: Zugehörigkeit der Isolate (Organproben) zu C. coli bzw. C. jejuni

Vermarktungsstufe	Organ	n [a]	C. coli n	C. coli / %	C. jejuni n	C. jejuni / %
Großhandel	Herz	14	7	50,0	7	50,0
	Leber	19	16	84,2	3	15,8
	Niere	10	8	80,0	2	20,0
	Summe	43	31	72,1	12	27,9
Einzelhandel	Herz	5	2	- [b]	3	-
	Leber	9	6	66,6	3	33,3
	Niere	2	1	-	1	-
	Summe	16	9	56,3	7	43,8
Gesamtsumme		59	40	67,8	19	32,2

[a] Anzahl der Isolate

[b] Prozentangabe entfällt, da nur wenige Isolate gefunden wurden.

4. Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse aus den Versuchen zum Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN

Es zeigte sich, daß bei der für Praxisverhältnisse vereinfachten Methodik (Herstellung der mikroaeroben Atmosphäre mit CampyPak - Gasentwicklertüten anstelle der Evakuierung und Begasung jeder einzelnen Saugflasche) nicht die notwendigen Sauerstoff- und Kohlendioxidkonzentrationen für eine Schüttelbebrütung erreicht wurden. Durch die beim Schütteln ständig neu in der Bouillon geschaffenen Oberflächen können sich auch schon geringe Abweichungen von den optimalen atmosphärischen Verhältnissen negativ auf das Wachstum von C. jejuni/coli auswirken. SMIBERT (1984) gab für C. jejuni/coli einen erforderlichen Sauerstoffanteil von 3-5 % bzw. Kohlendioxidanteil von 3-15 % an der Gesamtinkubationsatmosphäre an. KARMALI et al. (1981) beobachteten, daß C. jejuni - Kulturen, die der normalen atmosphärischen Luft ausgesetzt waren, einer raschen kokkoiden Degeneration unterlagen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse des Medienvergleiches und des modifizierten Preston-Mediums

Die ermittelten Ergebnisse machen deutlich, daß die von S c h w e i n e n isolierten C. c o l i - Stämme andere Empfindlichkeitsmuster gegenüber Antibiotika aufweisen als die meisten der verwendeten h u m a n e n C. c o l i - Isolate und als alle C. j e j u n i - Isolate, unabhängig, ob diese von Schweinen oder von erkrankten Menschen stammen.

Es ist darauf hinzuweisen, daß die Herkunft der 16 C. coli (Schwein) - Teststämme sehr unterschiedlich war: Kotproben von Läufern, Mastschweinen und Sauen aus zwei verschiedenen Berliner Beständen, Kotproben von Schlachtschweinen aus dem

Schlachthof Berlin-Spandau (Herkunft der Tiere: DDR), Proben von Schweinegeschlinge und Schweineplazenta, Proben aus der Schweineschlachthalle und Kuttelei des Schlachthofes Berlin-Spandau. Die Isolate wurden im Laufe eines Zeitraumes von 4 Jahren gewonnen. Demnach dürfte die Auswahl der C. coli (Schwein) - Teststämme als repräsentativ anzusehen sein.

Auf die Polymyxin B - Empfindlichkeit, die nach den vorliegenden Ergebnissen allen diesen Schweineisolaten C. coli eigen ist, wurde von anderen Untersuchern ebenfalls hingewiesen, wobei diese allerdings die Empfindlichkeit gegenüber Polymyxin B nicht als charakteristisch für C. coli im Unterschied zu C. jejuni beschrieben (VANHOOF et al., 1980; GILCHRIST et al., 1981; KARMALI et al., 1981; HÄNNINEN, 1982 a, 1982 b; ROBSAMEN et al., 1982; LOVETT et al., 1983; WEBER et al., 1983; WEISSER, 1983; RAY u. JOHNSON, 1984 a, 1984 b; STEELE u. McDERMOTT, 1984).
In den Untersuchungen von NG et al. (1985) wurde erstmals darauf hingewiesen, daß C. coli - Stämme - im Unterschied zu C. jejuni - aufgrund einer Empfindlichkeit gegenüber Polymyxin B und Cephalotin oftmals auf den handelsüblichen Campylobacter - Selektivnährböden, die diese Antibiotika enthalten, stark gehemmt werden können. Die Autoren kommen zu dem Schluß, daß das Vorkommen von C. coli möglicherweise allgemein unterschätzt würde, weil ein Nachweis von C. coli aus den genannten methodischen Gründen nicht immer möglich sei.
Die hier aufgeführten Befunde anderer Untersucher wie auch die Ergebnisse aus den eigenen Untersuchungen werfen die Frage auf, ob der Anteil von C. coli an den bei erkrankten Menschen isolierten thermophilen Campylobacterstämmen tatsächlich nur 5 % (SKIRROW u. BENJAMIN, 1982) bzw. 13,4 % (KAPPERUD et al., 1984) bzw. 17,6 % (LIOR, 1984) bzw. 20 % (ULLMANN, 1984) bzw. 43,9 % (GEORGES-COURBOT, 1986) beträgt. Diese Nachweisquoten beruhen auf der Untersuchung mit den gängigen, d.h. Polymyxin B - bzw. cephalotinhaltigen Campylobacternährböden und können deshalb hinsichtlich des Nachweises von C. coli falsch negative Befunde erbracht haben.

Daß von den 4 h u m a n e n C. c o l i - Teststämmen (C 454, 2264/84, 1289/80, 6541/81) nur 2 in dem Anreicherungsmedium nach DOYLE u. ROMAN (1982) und alle 4 im Preston-Anreicherungsmedium von BOLTON u. ROBERTSON (1982) reisoliert werden konnten, könnte möglicherweise eine Folge der unterschiedlich hohen Polymyxin B - Konzentrationen dieser Medien (20 000 IU /l im Medium von DOYLE u. ROMAN, 5 000 IU /l im Preston-Medium) sein. Andererseits weist dies auf einen Unterschied zu den C. coli - Stämmen hin, die vom S c h w e i n isoliert worden waren und erst bei Polymyxin B - Konzentrationen unter 1 500 IU /l im Preston-Medium reisoliert werden konnten (Tab. 3.7). Ob daraus gefolgert werden kann, daß die vom Schwein stammenden Isolate epidemiologisch unbedeutend sind, müßte serologisch oder anhand des Vorkommens spezifischer Pathogenitätsmerkmale, die aber bislang bei Campylobacter unbekannt sind, überprüft werden.

Die bei den C. j e j u n i - Teststämmen erzielten Reisolierungsergebnisse ergaben in dem durchgeführten Medienvergleich eine vergleichbar gute Sensitivität und Selektivität beider Anreicherungsverfahren. Bisherige, aus der Literatur bekannte Untersuchungen des Preston-Anreicherungsmediums und der Anreicherungsbouillon nach DOYLE u. ROMAN, die sich vorwiegend mit dem Nachweis von C. j e j u n i befaßten, bestätigen dies (FRICKER et al., 1983; FRICKER, 1984; HEISICK et al., 1984; ROTHENBERG et al. 1984; BEUCHAT, 1985; HUNT et al., 1985).

4.3 Diskussion der Ergebnisse aus der Untersuchung von Hackfleischhandelsproben

Nach einer Reihe bereits vorliegender negativer Untersuchungsergebnisse bei der Ermittlung des Vorkommens von C. jejuni/coli in Schweinehackfleisch (TEUFEL, 1982; TURNBULL u. ROSE, 1982; NESBAKKEN et al., 1985; OOSTEROM, 1985) sollte dies in der vorliegenden Arbeit mit einem Anreicherungsmedium, das speziell zur Isolierung von C. jejuni/coli aus Schweinefleisch entwickelt worden war, nochmals überprüft werden. In den methodischen Vorversuchen bestätigte sich die B e d e u t u n g d e s M e d i e n e i n f l u s s e s , weil fast alle herkömmlichen Campylobacter-Nachweismedien Polymyxin B bzw. dessen Derivat Colistin enthalten und gerade die beim Schwein hauptsächlich vorkommende Species C. coli eine hohe Polymyxin B - Empfindlichkeit aufwies. Diese Polymyxin B - Empfindlichkeit dürfte sich insbesondere bei den in Schweinehackfleisch zu erwartenden niedrigen Keimzahlen auf einen möglichen Nachweis negativ auswirken.

Daß aber trotz der Verwendung eines Polymyxin B - freien Anreicherungsmediums die Nachweisquote bei 0 % lag, lenkt die Aufmerksamkeit auf die T e n a z i t ä t von C. jejuni/coli. C. jejuni/coli - Keime, die durch mangelhafte Schlachthygiene die Schlachtkörperoberfläche in relativ niedrigen Keimzahlen (BORNEMANN-ROHRIG, 1985) kontaminiert haben, sterben während der Kühlungs- und Abtrocknungsphase, bis sie in den Einzelhandel gelangen und dort möglicherweise aus einzelnen Teilen Hackfleisch hergestellt wird, nahezu vollständig ab (BOLTON et al., 1982; HUDSON u. ROBERTS, 1982; BORNEMANN-ROHRIG, 1985; BRACEWELL et al., 1985; OOSTEROM, 1985). Trotz der an sich für das Oberleben von Campylobacter günstigen Kühltemperatur (TANNER u. BULLIN, 1977; BLASER et al., 1980; SVEDHEM et al., 1981; BLANKENSHIP u. CRAVEN, 1982; CHRISTOPHER et al., 1982) kommt es also aufgrund der hohen Empfindlichkeit gegenüber A b t r o c k n u n g (DOYLE u. ROMAN, 1982 b; HUDSON u. ROBERTS, 1982; BORNEMANN-ROHRIG, 1985; OOSTERROM, 1985) zum Absterben der Keime.

Eine primäre Kontamination des Hackfleisches ist demnach aufgrund der Tenazität des Erregers kaum möglich.
Im Falle einer sekundären Kontamination bei der Hackfleischherstellung beispielsweise böte Hackfleisch allerdings günstige Bedingungen für das Überleben von Campylobacter - Keimen (SVEDHEM et al., 1981; STERN u. KOTULA, 1982; TEUFEL, 1982). Die vorliegenden negativen Untersuchungsergebnisse geben allerdings keinen Hinweis auf die Wahrscheinlichkeit einer Rekontamination des Hackfleisches.

4.4 Diskussion der Ergebnisse aus der Untersuchung von Innereienproben

Auf Schweineinnereien ist bisher - im Gegensatz zu Innereien vom Geflügel - nur in einzelnen, wenig umfangreichen Untersuchungen die Nachweishäufigkeit von C. jejuni/coli bestimmt worden (Tab. 2.4).

Die für Schweineinnereien aus dem Schlachthof ermittelten Nachweisraten weichen dabei stark voneinander ab (Tab. 2.4):
STERN et al. (1984) fanden im Direktverfahren 26 % positive Schweineleberproben, BOLTON et al. (1985) jedoch nur 2,5 %, obwohl sie sogar mit Anreicherung gearbeitet hatten.
BORNEMANN-ROHRIG (1985) konnte auf jedem (100 %) von 5 Schweinegeschlingen C. jejuni/coli nachweisen.
Untersuchungen von Schweineinnereien auf Großhandelsebene sind nicht beschrieben.
Auf Einzelhandelsebene gibt es bisher nur eine Untersuchung von BOLTON et al. (1985), die mittels Anreicherung aus 26 Proben (vorwiegend Schweineleber) 3 (11,5 %) positive fanden.

Die eigene Untersuchung von Schweineleber aus dem Einzelhandel ergab eine wesentlich höhere Nachweisrate (34,6 % mittels Anreicherung) als die von BOLTON et al. (1985) gefundene von 11,5 %. Dies könnte möglicherweise seine Ursache in der Verwendung des Polymyxin B - freien Preston-Mediums haben, da BOLTON et al. (1985) von der originalen Antibiotikarezeptur des Preston-Mediums ausgingen.
Die in dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse über die Kontamination von Schweineherz, -leber und -niere im Groß- und Einzelhandelsbereich machen deutlich, daß C. jejuni/coli auf inneren Organen, deren feuchte Oberfläche durch den Transport in Behältern - abgesehen von der oberen Lage - zunächst erhalten bleibt, bis hin zur Einzelhandelsebene überleben kann. Dies ist ein wesentlicher Unterschied zu Schlachttierkörpern, die im Hängen sehr schnell abtrocknen und bei denen bereits im Groß- sowie dann auch im Einzelhandel Campylobacter nicht mehr nachgewiesen werden kann (BOLTON et al., 1982).

Innige Vermischung der Geschlinge während des Transportes vom Schlachthof in die Innereiengroßhandlung, im Innereiengroßhandel eine erneute Vermischung durch Ablösung und Sortierung nach Organarten, dazu noch der Kontakt der Organoberflächen zu den kontaminierten, blutverschmierten Händen des Personals und zu den kontaminierten Arbeitsbrettflächen (Tab. 3.11) - dies alles kann die hohe durchschnittliche Nachweisquote von 68,3 % der mittels Anreicherung untersuchten Innereien auf G r o ß h a n d e l s e b e n e verständlich machen.
Die Befunde der E i n z e l h a n d e l s p r o b e n zeigten eine R e d u z i e r u n g d e r K o n t a m i n a t i o n s r a t e auf ein Drittel (Anreicherung) bzw. ein Siebtel (Direktnachweis) der Großhandelsquote. Dies könnte mit der einsetzenden Abtrocknung der Organoberflächen während des Ausliegens im Verkaufstresen erklärt werden. Interessanterweise war Schweineleber (34,6 %),verglichen mit Herz (23,8 %) und Niere (9,5 %),am häufigsten kontaminiert. Berücksichtigt man dabei, daß Galle und Gallengänge zum Erregerreservoir von C. jejuni/coli gehören und dort auch häufig nachgewiesen werden können

(ROSEF, 1981; GÜRGEN et al., 1983; BORNEMANN-ROHRIG, 1985), daß Galle deshalb auch als Zusatz zu Campylobacter-Medien verwendet wird (OOSTEROM, 1985), so ist diese hohe Kontaminationsquote der Leber dadurch erklärbar.

Um eine potentielle Gefährdung des Verbrauchers durch kontaminierte Organe einschätzen zu können, ist es notwendig, den Befallsgrad des einzelnen Organes im Einzelhandel zu berücksichtigen. Von den insgesamt 16 positiven Einzelhandelsproben war nur eine bereits im Direktausstrich positiv, alle übrigen erst nach Anreicherung. Nach STERN (1982 b) liegt die Nachweisgrenze des direkten Campylobacter-Nachweises auf Fleischoberflächen bei ca. 400 Zellen pro Tupferprobe. Dies bedeutet für die hier zu besprechende Untersuchung der Einzelhandelsproben, daß nur in der einen Leberprobe (25 g), die bereits im Direktverfahren positiv war, ein Keimgehalt von über 400 Zellen pro Probenstück (25 g) vorlag.
Alle übrigen Leberteilstückproben sowie die in toto abgespülten Herzen und Nieren, die nur nach Anreicherung positiv waren, waren mit Keimgehalten unter 400 Zellen kontaminiert. Die von ROBINSON (1981) angegebene minimale Infektionsdosis von 500 Campylobacter-Zellen wird somit am ehesten von den positiven Leberproben, geht man dabei von größeren Scheiben als den 25 g - Probestücken aus, erreicht.
Die potentielle Infektionsgefährdung des Menschen durch mit Campylobacter kontaminierte Schweineinnereien kann demnach auf die Leber eingegrenzt werden. Untersuchungen von BOLTON et al. (1985) haben gezeigt, daß u.a. die bei Schweineleber gefundenen C. jejuni/coli - Isolate den Biotypen und Serotypen, die bei Menschen als Enteritiserreger angetroffen werden, entsprechen. Dies bestätigt die bereits angesprochene potentielle Infektionsgefahr für den Menschen, die bei mangelnder Verkaufs- oder Küchenhygiene oder auch bei der Verfütterung roher Leber an Haustiere gegeben ist.

5. Schlußfolgerungen

1) Der Nachweis von C. j e j u n i ist sowohl mit dem Anreicherungsverfahren nach DOYLE u. ROMAN (1982) als auch mit der Preston-Anreicherungsmethodik nach BOLTON u. ROBERTSON (1982) möglich.

2) Zum sicheren Nachweis von C. c o l i in Hackfleisch und auf Innereien vom S c h w e i n , bei dem vorwiegend mit dieser Campylobacter-Species gerechnet werden muß, ist keines der beiden geprüften Anreicherungsverfahren geeignet. Eine Polymyxin B - freie Modifikation des Preston-Mediums erscheint dagegen für den Nachweis sowohl geringer Mengen von C. coli als auch von C. jejuni geeignet.

3) Auf Innereien von Schweinen ist Campylobacter jejuni/coli nachzuweisen. Die Kontaminationsrate geht vom Großhandel (68 %) zum Einzelhandel (24 %) stark zurück.

   Berücksichtigt man den Befallsgrad des einzelnen Organes im Einzelhandel, so läßt sich eine potentielle Gefährdung des Verbrauchers auf Schweine l e b e r eingrenzen.

4) Zur Vermeidung einer möglichen Kontamination anderer Lebensmittel durch Schweineleber ist bei der Handhabung von Schweineleber in Fleischverkaufsstellen sowie im Haushalt auf Hygiene zu achten.

5) Die Verfütterung roher Schweineleber an Haustiere stellt sowohl ein Infektionsrisiko dieser Tiere als auch einen möglichen Obertragungsweg auf Menschen im Umfeld dieser Tiere dar.

6) In Schweinehackfleisch ist C. jejuni/coli nicht zu erwarten.

6. Zusammenfassung

Seit Ende der siebziger Jahre wurden die bei vielen Haus- und Nutztierarten angesiedelten Bakterienspecies Campylobacter jejuni und Campylobacter coli in steigendem Maße bei Menschen isoliert, die sich, möglicherweise verursacht durch den Genuß von kontaminierten Lebensmitteln (Fleisch, Rohmilch, Trinkwasser), eine Darminfektion zugezogen hatten. Etliche Angaben in der Literatur lassen vermuten, daß diese Bakterien der Gattung Campylobacter in ihrer Nachweishäufigkeit bei erkrankten Menschen die Salmonellen eingeholt haben. Ursache für die steigende Nachweisfrequenz sind möglicherweise nicht ein tatsächlich vermehrtes Vorkommen von Campylobacter, sondern bessere Kenntnisse über die kulturellen Ansprüche dieser Keime und eine darauf abgestimmte Nachweismethodik.

Für die Untersuchung verdächtiger Stuhlproben sind seit einigen Jahren mehrere selektiv wirksame Festnährböden im Einsatz. Zum Nachweis in Lebensmitteln, die vorwiegend geringradig kontaminiert sind, ist allerdings vor dem Ausstrich auf einen Festnährboden eine Anreicherung in einem Flüssignährmedium notwendig. Es steht inzwischen fest, daß auch relativ geringe Keimmengen zu einer Infektion beim Menschen führen können. Zum Nachweis dieser geringen Keimzahlen in Lebensmitteln wurde das Anreicherungsverfahren nach DOYLE und ROMAN (1982), das in Amerika weite Verbreitung gefunden hat, mit dem Anreicherungsverfahren nach BOLTON und ROBERTSON (1982) ("Preston-Medium"), das u.a. in Großbritannien und auch in Deutschland benutzt wird, verglichen.

Zunächst wurde das Vermehrungsverhalten von 29 Campylobacterstämmen, die überwiegend aus Schweinekot isoliert worden waren, aber auch z.T. von an Enteritis erkrankten Menschen stammten, mit den beiden o.g. Anreicherungsmethoden in Modellversuchen untersucht. Dabei zeigte sich, daß beide Anreicherungsverfahren für einen empfindlichen Nachweis auch geringster Mengen von

Campylobacter j e j u n i geeignet sind. Zum Nachweis von Campylobacter c o l i allerdings, einer Species, die hauptsächlich beim Schwein vertreten ist, erwies sich keines dieser Medien als geeignet.

Durch Reduktion von Polymyxin B im Preston-Medium gelang es, auch Campylobacter coli - Stämme zur Vermehrung zu bringen. Dabei erwies sich die selektive Wirkung dieses modifizierten Preston-Mediums in Modellversuchen mit Hackfleisch, das eine naturgemäß sehr starke Begleitflora besitzt, als noch ausreichend.

In der anschließenden Untersuchung von Schweinehackfleischhandelsproben aus 32 Berliner Metzgereien und Supermärkten konnte mit diesem vorgeprüften Medium in keiner der 65 Proben Campylobacter nachgewiesen werden. Dies stimmt mit andernorts durchgeführten Untersuchungen von Hackfleisch überein und weist darauf hin, daß - im Unterschied zu den Salmonellen - Schweinehackfleisch keinen Obertragungsweg zum Menschen darstellt.

Anders fiel die Untersuchung von 131 Schweineinnereien (Herz, Leber, Niere) aus: in 6,1 % der Proben war bereits im Direktausstrich Campylobacter jejuni/coli nachweisbar, mit Anreicherung in insgesamt 45,0 %. Die 131 Proben verteilten sich auf 68 Einzelhandelsproben und 63 Proben aus einer Berliner Innereiengroßhandlung. Es fiel dabei auf, daß auf Großhandelsebene der Anteil positiver Proben ca. siebenmal (Direktausstrich) bzw. dreimal so hoch war wie im Einzelhandel. Auf Einzelhandelsebene erwies sich Schweineleber, verglichen mit Schweineherz und -niere, am häufigsten (3,9 %) und stärksten (> 400 Campylobacter-Zellen pro 25 g) kontaminiert.
Eine potentielle Infektionsgefährdung des Menschen läßt sich aufgrund dieses Befallsgrades auf die Leber eingrenzen, da nur hier der Wert der minimalen Infektionsdosis für Campylobacter erreicht ist.

Bei der Handhabung von Schweineleber in Fleischverkaufsstellen sowie im Haushalt muß deshalb darauf geachtet werden, daß keine Kontamination anderer Lebensmittel erfolgt. Die Verfütterung roher Leber an Haustiere sollte unterbleiben, um ein Infektionsrisiko dieser Tiere sowie einen möglichen Übertragungsweg auf Menschen im Umfeld dieser Tiere auszuschließen.

Summary

Household and farm animals are the natural reservoir of Campylobacter jejuni/coli. Since the end of the seventies these bacteria have been isolated more and more in people suffering from diarrhoeal infection. The infection ist possibly caused by contaminated food (meat, raw milk, drinking water). Some authors suppose that meanwhile Camyplobacter has acquired the same significance as Salmonella. The increasing frequency of detection is possibly the result of better knowledge concerning the sensitivity of Campylobacter and the suitable methods of detection.

For several years selective plating media have been used to examine stool specimens. However, to detect Campylobacter in food, enrichment is necessary because only a small number of these bacteria may be present in contaminated foods. It is believed that even a small number of Campylobacter jejuni/coli can cause an infection in man. In order to find a sensitive enrichment procedure a comparison was made between the enrichment procedure of DOYLE and ROMAN (1982) and the Preston enrichment procedure of BOLTON and ROBERTSON (1982). Today DOYLE and ROMAN's procedure is mainly practised in America, the Preston enrichment medium is widely used in the U.K. and in the FRG.

Initially, model studies with 29 strains of Campylobacter jejuni/coli were carried out to investigate growth conditions in both the media. The experiments showed that even in small inocula, Campylobacter j e j u n i could be reisolated through both the enrichment procedures. However, none of these procedures was suitable for detecting Campylobacter c o l i which, above all, occurs in pigs.
Growth of Campylobacter coli strains was successfully induced by means of reduction of Polymyxin B. The selectivity of this modified Preston medium was still sufficient for the investigation of minced meat which is normally characterized by a large competitive flora.

With this modification of the Preston medium 65 samples of minced pork purchased in 32 butchers' shops of Berlin were investigated by enrichment. None of these samples proved to be contaminated with Campylobacter jejuni/coli. This agrees with other investigations of minced meat and indicates that minced pork - as opposed to Salmonella - seems not to be a transmission factor of Campylobacter.

The investigation of 131 pig offal samples (heart, liver, kidney) resulted in a Campylobacter-positive portion of 6.1 % by direct culture and 45.0 % by enrichment. Of the 131 pig offal samples 68 samples were purchased in retail trade and 63 in wholesale trade. The number of positive wholesale trade samples was seven times higher by direct culture and three times higher by enrichment compared to the number of positive retail trade samples. In retail trade only liver yielded a relatively high level of contamination (3.9 % with more than 400 Campylobacter cells per 25 g). In this case the infective dose described for Campylobacter is reached.
Therefore contamination of other foods by pig's liver in the butcher's trade and in the household should be avoided. Moreover, pets should not be fed with raw liver in order to prevent infection, directly to these animals and indirectly to man.

7. Literaturverzeichnis

ACUFF, G.R., C. VANDERZANT, F.A. GARDNER u. F.A. GOLAN (1982):
Evaluation of an enrichment-plating procedure for the recovery of Campylobacter jejuni from turkey eggs and meat.
J. Food Protect. 45, 14, 1276-1278

ALTMEYER, M., P. KRABISCH u. P. DORN (1985):
Zum Vorkommen und zur Verbreitung von Campylobacter jejuni/coli in der Jungmastgeflügel-Produktion. 1. Mitteilung.
Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 92, 456-459

BAROT, M.S. u. V.D. BOKKENHEUSER (1974):
Systematic investigation of enrichment media for wild-type Campylobacter jejuni strains.
J. clin. Microbiol., 20, 1, 77-80

BAROT, M.S., A.C. MOSENTHAL u. V.D. BOKKENHEUSER (1983):
Location of Campylobacter jejuni in infected chicken livers.
J. clin. Microbiol. 17, 5, 921-922

BEUCHAT, L.R. (1985):
Efficacy of media and methods for detecting and enumerating Campylobacter jejuni in refrigerated chicken meat.
Appl. environ. Microbiol. 50, 4, 934-939

BLANKENSHIP, L.C. u. S.E. CRAVEN (1982):
Campylobacter jejuni survival in chicken meat as a function of temperature.
Appl. environ. Mircrobiol. 44, 1, 88-92

BLASER, M.J., I.D. BERKOWITZ, M. LaFORCE, J. CRAVENS, L. BARTH, RELLER u. W.L. WANG (1979):
Campylobacter enteritis: Clinical and epidemiological features.
Ann. intern. Med. 91, 2, 179-185

BLASER, M.J., H.L. HARDESTY, B., POWERS u. W.-L.L. WANG (1980):
Survival of Campylobacter fetus subsp. jejuni in biological milieus.
J. clin. Microbiol. 11, 4, 309-313

BOKKENHEUSER, V.D. (1982):
Growth requirements and culture media-general discussion.
in: D.G. NEWELL (Hrsg.): Campylobacter Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry.
MTP Press Limited, Lancaster, Boston, 83

BOKKENHEUSER, V.D. u. M.S. BAROT (1984):

Campylobacter jejuni in food products.
Oxoid Culture 5, 1, -

BOLTON, F.J. u. D. COATES (1983):

Development of a blood-free Campylobacter medium: screening tests on basal media and supplements, and the ability of selected supplements to facilitate aerotolerance.
J. appl. Bacteriol. 54, 115-125

BOLTON, F.J., D. COATES, P.M. HINCHLIFFE u. L. ROBERTSON (1983):

Comparison of selective media for isolation of Campylobacter jejuni/coli.
J. clin. Pathol. 36, 78-83

BOLTON, F.J., D. COATES u. D.N. HUTCHINSON (1984):

An ability of campylobacter media supplements to neutralize photochemically induced toxicity and hydrogen peroxide.
J. appl. Bacteriol. 56, 151-157

BOLTON, F.J., H.C. DAWKINS u. D.N. HUTCHINSON (1985):

Biotypes and serotypes of thermophilic campylobacters isolated from cattle, sheep and pig offal and other red meats.
J. Hyg. Camb. 95, 1-6

BOLTON, F.J., H.C. DAWKINS u. L. ROBERTSON (1982):

Campylobacter jejuni/coli in abattoirs and butchers shops.
J. Infect. 4, 243-245

BOLTON, F.J., D.N. HUTCHINSON u. D. COATES (1984):

Blood-free selective medium for isolation of Campylobacter jejuni from faeces.
J. clin. Microbiol. 19, 2, 169-171

BOLTON, F.J. u. L. ROBERTSON (1982):

A selective medium for isolating Campylobacter jejuni/coli.
J. clin. Pathol. 35, 462-467

BOPP, C.A., J.G. WELLS u. T. BARRETT (1982):

Trimethoprim activity in media selective for Campylobacter jejuni.
J. clin. Microbiol. 16, 5, 808-812

BORNEMANN-ROHRIG, M. (1985):

Vorkommen von Campylobacter jejuni und Campylobacter coli bei Tierkörpern, Nebenprodukten und in der Umgebung des Schweineschlachtprozesses mit Modellversuchen über die Tenazität der Erreger. Berlin, Freie Univ., Fachber. Veterinärmed., Diss.

BRACEWELL, A.J., J.O. REAGAN, J.A. CARPENTER u. L.C. BLANKENSHIP (1985):

Incidence of Campylobacter jejuni/coli on pork carcasses in the northeast Georgia area.
J. Food Protect. 48, 9, 808-810

BREER, C. (1984):

Campylobacter und Lebensmittel.
in: Schweizerische Gesellschaft für Lebensmittelhygiene (Hrsg.): Neue Erkenntnisse über die Erreger bakterieller Lebensmittelinfektionen.
Heft 14. CH-5035 Muhen, 18-30

BROOKS, B.W., M.M. GARCIA, H. LIOR, R.B. STEWART, A.D.E. FRASER u. A.M. LAMMERDING (1985):

Isolation and characterisation of cephalothin-sensitive Campylobacter coli from slaughter cattle.
in: PEARSON, A.D., M.B. SKIRROW, H. LIOR u. B. ROWE (Hrsg.): Campylobacter III.
Public Health Laboratory Service, London, 108

BRUCE, D., W. ZOCHOWSKI u. G.A. FLEMING (1980):

Campylobacter infections in cats and dogs.
Vet. Rec. 107, 4, 200-201

BUTZLER, J.P., P. DEKEYSER, M. DETRAIN u. F. DEHAEN (1973):

Related vibrio in stools.
J. Pediatr. 82, 493-495
zit. nach BUTZLER, J.P. u. M.B. SKIRROW (1979a)

BUTZLER, J.P. u. M.B. SKIRROW (1979a):

Campylobacter enteritis.
Acta Paediatr. Belg. 32, 89-94

BUTZLER, J.P. u. M.B. SKIRROW (1979b):

Campylobacter enteritis.
Clin. Gastroenterol. 8, 3, 737-765

CHAN, F.T.H. u. A.M.R. MACKENZIE (1982):

Enrichment medium and control system for isolation of Campylobacter fetus sp. jejuni from stools.
J. clin. Microbiol. 15, 1, 12-15

CHAN, F.T.H. u. A.M.R. MACKENZIE (1984):
Advantage of using enrichment - culture techniques to isolate Campylobacter jejuni from stools.
J. infect. Dis. 149, 481-482

CHOU, S.P., R. DULAR u. S. KASATIYA (1983):
Effect of ferrous sulfate, sodium metabisulfite and sodium pyruvate on survival of Campylobacter jejuni.
J. clin. Microbiol. 18, 4, 986-987

CHRISTOPHER, F.M., G.C. SMITH u. C. VANDERZANT (1982a):
Effect of temperature and pH on the survial of Campylobacter fetus.
J. Food Protect. 45, 3, 253-259

CHRISTOPHER, F.M., G.C. SMITH u. C. VANDERZANT (1982b):
Examination of poultry giblets, raw milk and meat for Campylobacter fetus subsp. jejuni.
J. Food Protect. 45, 3, 260-262

DAWKINS, H.C., F.J. BOLTON u. D.N. HUTCHINSON (1984):
A study of the spread of Campylobacter jejuni in four large kitchens.
J. Hyg. Camb. 92, 357-364

DE BOER, E., R.R. BEUMER, B.J. HARTOG u. A. NOOMEN (1985):
An occurrence and survival of Campylobacter jejuni in milk.
in: A.D. PEARSON, M.B. SKIRROW, H. LIOR u. B. ROWE (Hrsg.): Campylobacter III.
Public Health Laboratory Service, London, 111-112

DEKEYSER, P., N. GOSSUIN-DETRAIN, J.P. BUTZLER u. J. STERNON (1972):
Acute enteritis due to related vibrio: First positive stool cultures.
J. infect. Dis. 125, 390-392

DOYLE, M.P. (1982):
Methods for detection of Campylobacter jejuni in food animals and animal-derived foods.
Vortrag WHO-Consultation on Veterinary Public Health: Aspects of prevention and control of campylobacter infections.
Moskau, 20.-22. Febr. 1984

DOYLE, M.P. (1984):
Association of Campylobacter jejuni with laying hens and eggs.
Appl. environ. Microbiol. 47, 3, 533-536

DOYLE, M.P. u. D.J. ROMAN (1981):

Growth and survival of Campylobacter fetus subsp. jejuni as a function of temperature and pH.
J. Food Protect. 44, 8, 596-601

DOYLE, M.P. u. D.J. ROMAN (1982):

Recovery of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from inoculated foods by selective enrichment.
App. environ. Microbiol. 43, 1343-1353

DOYLE, M.P. u. D.J. ROMAN (1982a):

Prevalence and survival of Campylobacter jejuni in unpasteurized milk.
Appl. environ. Microbiol. 44, 5, 1154-1158

DOYLE, M.P. u. D.J. ROMAN (1982b):

Sensitivity of Campylobacter jejuni to drying.
J. Food Protect. 45, 6, 507-510

FIREHAMMER, B.D. u. L.L. MYERS (1981):

Campylobacter fetus subsp. jejuni: Its possible significance in enteric disease of calves and lambs.
Am. J. vet. Res. 42, 918-922

FLETCHER, R.D. u. H.U. BERTSCHINGER (1964):

A method of isolation of Vibrio coli from swine fecal material by selected filtration.

Zentralbl. Veterinärmed. B. 11, 469-474

FRICKER, C.R. (1984):

Procedures for the isolation of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from poultry.
Int. J. Food Microbiol. 1, 149-154

FRICKER, C.R., R.W.A. GIRDWOOD u. D. MUNRO (1983):

A comparison of procedures for the isolation of campylobacters from seagull faeces.
J. Hyg. Camb. 91, 445-450

FRIDOVICH, J. (1974):

Superoxide dismutases.
Adv. Enzymol. 41, 35-97
zit. nach F.J. BOLTON u. D. COATES (1983)

GARCIA, M.M., H. LIOR, R.B. STEWART, G.M. RUCKERBAUER, J.R.R. TRUDEL u. A. SKLJAREVSKI (1985):

Isolation, characterization, and serotyping of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from slaughter cattle.
Appl. environ. Microbiol. 49, 3, 667-672

GARROD, L.R. u. P.M. WATERWORTH (1962):

Methods of testing combined antibiotic bactericidal action and the significance of the results.
J. clin. Pathol. 15, 328-338
zit. nach BOPP et al. (1982)

GEORGE, H.A., P.S. HOFFMANN, R.M. SMIBERT u. N.R. KRIEG (1978):

Improved media for growth and aerotolerance of Campylobacter fetus.
J. clin. Microbiol. 8, 1, 36-41

GEORGES-COURBOT, M.C., C. BAYA, A.M. BERAUD, D.M.Y. MEUNIER u. A.J. GEORGES (1986):

Distribution and serotypes of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in enteric Campylobacter strains isolated from children in the Central African Republic.
J. clin. Microbiol. 23, 3, 592-594

GILCHRIST, M.J.R., C.M. GREWELL u. J.A. WASHINGTON II (1981):

Evaluation of media for isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni from fecal specimens.
J. clin. Microbiol. 14, 4, 393-395

GÜRGEN, M., G. KIRPAL u. W. BISPING (1983):

Untersuchungen zum Vorkommen von Keimen der Gattung Campylobacter beim Schwein. Teil I: Kulturelle Untersuchung von Kot, Darminhalt und Gallenblasen sowie Infektionsversuche.
Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. 96, 3, 86-89

GRANT, J.H., N.J. RICHARDSON u. V.D. BOKKENHEUSER (1980):

Broiler chickens as potential source of Campylobacter infections in humans.
J. clin. Microbiol. 11, 5, 508-510

HÄNNINEN, M.L. (1982a):

Comparison of four enrichment media in the recovery of Campylobacter jejuni.
Acta vet. scand. 23, 425-437

HÄNNINEN, M.L. (1982b):

Effect of recovery medium on the isolation of Campylobacter jejuni before and after heat treatment.
Acta vet. scand. 23, 416-424

HARVEY, S.M. (1980):

Hippurate hydrolysis by Campylobacter fetus.
J. clin. Microbiol. 11, 4, 435-437

HASSELBACH, P., G. KIRPAL, M. GÜRGEN u. W. BISPING (1984):

Untersuchungen zum Vorkommen von Keimen der Gattung Campylobacter beim Schwein. Teil II: Kulturelles Verhalten, Differenzierung und Resistenzprüfung der isolierten Campylobacterstämme.
Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. 97, 4, 113-119

HEISICK, J., J. LANIER u. J.T. PEELER (1984):

Comparison of enrichment methods and atmosphere modification procedures for isolating Campylobacter from foods.
Appl. environ. Microbiol. 48, 6, 1254-1255

HOFFMANN, P.S., N.R. KRIEG u. R.M. SMIBERT (1979a):

Studies of the microaerophilic nature of Campylobacter fetus subsp. jejuni. I. Physiological aspects of enhanced aerotolerance.
Can. J. Microbiol. 25, 1, 1-7

HOFFMANN, P.S., H.A. GEORGE, N.R. KRIEG u. R.M. SMIBERT (1979b):

Studies of the microaerophilic nature of Campylobacter fetus subsp. jejuni. II. Role of exgenous superoxide anious and hydrogen peroxide.
Can. J. Microbiol. 25, 1, 8-16

HOLLÄNDER, R. (1982a):

Enteritis infectiosa: "Übrige Formen".
Bundesgesundheitsbl. 12, 373-383

HOLLÄNDER, R. (1982b):

Infektketten bei Campylobacter jejuni/coli Infektionen des Kindes.
Monatsschr. Kinderheilkd. 130, 846-848

HUDSON, W.R. u. T.A. ROBERTS (1982):

An occurrence of campylobacter on commercial red-meat carcasses from one abattoir.
in: D.G. NEWELL (Hrsg.): Campylobacter Epidemiologgy, Pathogensis and Biochemistry.
MTP Press Limited, Lancaster, Boston, 273

HUMPHREY, T.J. u. J.G. CRUICKSHANK (1985):

Antibiotic and deoxycholate resistance in Campylobacter jejuni following freezing or heating.
J. appl. Bacteriol. 59, 65-71

HUNT, J.M., D.W. FRANCIS, J.T. PEELER u. J. LOVETT (1985):

Comparison of methods for isolating Campylobacter jejuni from raw milk.
Appl. environ. Microbiol. 50, 2, 535-536

HUTCHINSON, D.N. u. F.J. BOLTON (1983):

Is enrichment culture necessary for the isolation of Campylobacter jejuni from faeces?
J. clin. Pathol. 36, 1350-1352

HWANG, M. u. G.M. EDERER (1975):

Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B Streptococci.
J. clin. Microbiol. 1, 1, 114-115

JAHN, B. (1983):

Campylobacter im Genitaltrakt des Schweines.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

KAPPERUD, G., J. LASSEN, S. LAUWERS u. O. ROSEF (1984):

Serotyping and biotyping of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from sporadic cases and outbreaks in Norway.
J. clin. Microbiol. 19, 2, 157-160

KARMALI, M.A., A.K. ALLEN u. P.C. FLEMING (1981):

Differentiation of catalase-positive Campylobacters with special reference to morphology.
Int. J. system. Bacteriol. 31, 1, 64-71

KARMALI, M.A., S. DE GRANDIS u. P.C. FLEMING (1981):

Antimicrobial susceptibility of Campylobacter jejuni with special reference to resistance patterns of Canadian isolates.
Antimicrob. Agents Chemother. 19, 4, 593-597

KARMALI, M.A., A.E. SIMOR, M. ROSCOE, P.C. FLEMING, S.S. SMITH u. J. LANE (1986):

Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of Campylobacter organisms from feces.
J. clin. Microbiol. 23, 3, 456-459

KERSCHNER, K. (1980):

Ein Beitrag über das Vorkommen von Salmonellen auf der Oberfläche frischer Schweine-Innereien (Herz, Leber, Niere) unter Berücksichtigung der verschiedenen Herkunft und Vermarkungsstufen.
Berlin, Freie Univ., Fachber. Veterinärmed., Diss.

KINDE, H., C.A. GENIGEORGIS u. M. PAPPAIOANOU (1983):

Prevalence of Campylobacter jejuni in chicken wings.
App. environ. Microbiol. 45, 3, 1116-1118

KÖRSTEINER, P., D. SCHIFFERLI, E. LANZ, J. BÜRGI u. C. ERB (1985):
Nachweis von Campylobacter-Arten bei Schlachttieren und Umgebungs-Untersuchung in einem Schlachthof.
Schweiz. Arch. Tierheilkd. 127, 231-238

LAMMERDING, A.M., E.D. MANN, Y. ROBINSON, M.M. GARCIA, W.J. DORWARD u. R.B. TRUSCOTT (1985):
Incidence and biotypes of thermophilic camyplobacters in fresh park, beef and poultry in Canada.
in: PEARSON, A.D., M.B. SKIRROW, H. LIOR u. B. ROWE (Hrsg.): Campylobacter III.
Public Health Laboratory Service, London, 107

LANDER, K.P. (1982):
A selective enrichment and transport medium for campylobacters.
in: D.G. NEWELL (Hrsg.): Campylobacter Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry.
MTP Press Limited, Lancaster, Boston, 77-78

LANDER, K.P. u. K.P.W. GILL (1980):
Experimental infection of the bovine udder with Campylobacter jejuni/coli.
J. Hyg. Camb. 84, 3, 421-428

LAUWERS, S., M. DE BOECK u. J.P. BUTZLER (1978):
Campylobacter enteritis in Brussels.
Lancet I, 8064, 604-605

LIOR, H. (1984):
New, extended biotyping scheme for Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, and "Campylobacter laridis".
J. clin. Microbiol. 20, 4, 636-640

LOVETT, J., D.W. FRANCIS u. J.M. HUNT (1983):
Isolation of Campylobacter jejuni from raw milk.
Appl. environ. Microbiol. 46, 2, 459-462

MARJAI, E.,I. KAJARY u. Z. HORVATH (1982):
Campylobacter jejuni contamination of slaughtered chickens.
Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 29, 3, 213-215

MARTIN, W.T., C.M. PATTON, G.K. MORRIS, M.E. POTTER u. N.D. PUHR (1983):
Selective enrichment broth medium for isolation of Campylobacter jejuni.
J. clin. Microbiol. 17, 5, 853-855

MORRIS, G.K., C.A. BOPP, C.M. PATTON u. J.G. WELLS (1982):

Media for isolating Campylobacter.
Arch. Lebensmittelhyg. 33, 151-153

NESBAKKEN, T., B. GONDROSEN u. G. KAPPERUD (1985):

Investigation of Yersinia enterocolitica Yersinia enterocolitica-like bacteria, and thermotolerant campylobacters in Norwegian pork products.
Intern. J. Food Microbiol. 1, 311-320

NG, L., M.E. STILES u. D.E. TAYLOR (1985):

Inhibition of Campylobacter coli and Campylobacter jejuni by antibiotics used in selective growth media.
J. clin. Microbiol. 22, 4, 510-514

OBERZILL, W. (1967):

Mikrobiologische Analytik.
Verlag Hans Carl, Nürnberg, S. 218-398

OOSTEROM, J. (1985):

Studies on the epidemiology of Campylobacter jejuni.
Rotterdam, Erasmus Univ., Proefschrift.

OXOID Deutschland GmbH, Wesel (1983):

Handbuch der "OXOID"-Erzeugnisse für Mikrobiologische Zwecke.
OXOID Deutschland GmbH, Wesel

PALUMBO, S.A. (1986):

Campylobacter jejuni in foods: its occurrence, isolation from foods, and injury.
J. Food Protect. 49, 2, 161-166

PARK, C.E., W. LIOR, P. PANKER u. U. PURVIS (1982):

Campylobacter food poisoning from steaks - Ontario.
Can. Dis. wkly Rep. 8, 36, 177
zit. nach J. OOSTEROM (1985)

PARK, C.E., Z.K. STANKIEWICZ, J. LOVETT u. J. HUNT (1981):

Incidence of Campylobacter jejuni in fresh eviscerated whole market chickens.
Can. J. Microbiol. 27, 841-842

PARK, C.E., Z.K. STANKIEWWICZ, J. LOVETT, J. HUNT u. D.W. FRANCIS (1983):

Effect of temperature, duration of incubation, and ph of enrichment culture on the recovery of Campylobacter jejuni from eviscerated market chickens.
Can. J. Microbiol. 29, 803-806

PATTON, C.M. S.W. MITCHELL, M.E. POTTER u. A.F. KAUFMANN (1981):
Comparison of selective media for primary isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni.
J. clin. Microbiol. 13, 2, 326-330

PENNER, J.L. u. J.N. HENNESSY (1980):
Passive hemagglutination technique for serotyping Campylobacter fetus subsp. jejuni on the basis of soluble heat-stable antigens.
J. clin. Microbiol. 12, 6, 732-737

PRIMAVESI, C.A. (1985):
Yersinia enterocolitica und Campylobacter jejuni in ihrer Bedeutung für die Milchhygiene.
Öff. Gesundheitswes. 47, 295-297

RAY, B. u. C. JOHNSON (1984a):
Sensitivity of cold-stressed Campylobacter jejuni to solid and liquid selective environments.
Food Microbiol. 1, 173-176

RAY, B. u. C. JOHNSON (1984b):
Survival and growth of freeze-stressed Campylobacter jejuni cells in selective media.
J. Food Safety 6, 183-195

RIBEIRO, C.D., S.J. GRAY u. T.H. PRICE (1982):
A new medium for isolating Campylobacter jejuni/coli.
J. clin. Pathol. 35, 1036-1037

RIBEIRO, C.D. u. T.H. PRICE (1984):
An use of Preston enrichment broth for the isolation of 'thermophilic' campylobacters from water.
J. Hyg. Camb. 92, 45-51

ROBINSON, D.A. (1984):
Infective dose of Campylobacter jejuni in milk.
Br. Med. J. 282, 6276, 1584

ROGOL, M. J. SECHTER, J. SHTAR, S. ALFI, Z. GREENBERG u. R. MISRACHI (1984):
Contamination of meat and environment with Compylobacter jejuni/coli in chicken abattoir, markets and restaurants.
Isr. J. Med. Sci. 20, 476

ROGOL, M. B. SHPAK, D. ROTHMAN u. J. SECHTER (1985):
Enrichment medium for isolating of Campylobacter jejuni - Campylobacter coli.
Appl. environ. Microbiol. 50, 1, 125-126

ROSEF, O. (1981):

Isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni from the gallbladder of normal slaughter pigs, using an enrichment procedure.
Acta vet. scand. 22, 1, 149-151

ROSEF, O., B. GONDROSEN u. G. KAPPERUD (1984):

Campylobacter jejuni and Campylobacter coli as surface contaminants of fresh and frozen poultry carcasses.
Intern. J. Food Microbiol. 1, 205-215

ROSENBLATT, J.E. u. P.R. STEWART (1974):

Combined activity of sulfamethoxazole, trimethoprim and polymyxin B against gram-negative bacilli.
Antimicrob. Agents Chemother. 6, 84-92
zit. nach BOPP et al. (1982)

ROTHENBERG, P.J., N.J. STERN u. D.C. WESTHOFF (1984):

Selected enrichment broths for recovery of Campylobacter jejuni from foods.
Appl. environ. Microbiol. 48, 1, 78-80

RUBIN, S.J. u. WOODARD, M. (1982):

Enhanced isolation of Campylobacter jejuni by cold enrichment in Campy-thio broth.
J. clin. Microbiol. 18, 4, 1008-1010

RÖBSAMEN, S. (1986):

Ober den Nachweis von Campylobacter jejuni und Campylobacter coli aus mehreren Tierspecies mit und ohne Enteritiden bei Verwendung verschiedener Antibiotika-Supplemente vergleichend.

Tierärztl. Umsch. 41, 134-140

SHIMADA, K. u. H. TSUJI (1986):

Enrichment for detection of Campylobacter jejuni.
J. clin. Microbiol. 23, 5, 887-890

SKIRROW, M.B. (1977):

Campylobacter enteritis, a "new" disease.
Br. Med. J. 2, 9-11

SKIRROW, M.B. u. J. BENJAMIN (1982):

The classification of 'thermophilic' campylobacters and their distribution in man and domestic animals.
in: D.G. NEWELL (Hrsg.): Campylobacter Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry.
MTP Press Limited, Lancaster, Boston, 40-44

SKIRROW, M.B. u. J. BENJAMIN (1984):

Is enrichment culture necessary for the isolation of Campylobacter from faeces ?
J. clin. Pathol. 37, 478

SMIBERT, R.M. (1984):

Genus Campylobacter SEBALD u. VÉRON 1963.
in: KRIEG, N.R. u. J.G. HOLT (Hrsg.):
Bacteriology, Williams and Wilkins,
Baltimore, London, 111-118

STEELE, T.W. u. S.N. McDERMOTT (1984):

The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of Campylobacter jejuni from faeces.
Pathology 16, 263-265

STERN, N.J. (1981a):

Campylobacter fetus ssp. jejuni: Recovery methodology and isolation from lamb carcasses.
J. Food Sci. 46, 660-663

STERN, N.J. (1981b):

Recovery rate of Campylobacter fetus ssp. jejuni on eviscerated pork, lamb, and beef carcasses.
J. Food Sci. 46, 1291-1293

STERN, N.J. (1982a):

Methods for recovery of Campylobacter jejuni from foods.
J. Food Protect. 45, 14, 1332-1337

STERN, N.J. (1982b):

Selectivity and sensitivity of three media for recovery of inoculated Campylobacter fetus subsp. jejuni from ground beef.
J. Food Safety 4, 169-175

STERN, N.J., S.S. GREEN, N. THAKER, D.J. KROUT u. J. CHIU (1984):

Recovery of Campylobacter jejuni from fresh and frozen meat and poultry collected at slaughter.
J. Food Protect. 47, 5, 372-374

STERN, N.J., M.P. HERNANDEZ, L. BLANKENSHIP, K.E. DEIBEL, S. DOORES, M.P. DOYLE, H. NG, M.D. PIERSON, J.N. SOFOS, W.H. SVEUM u. D.C. WESTHOFF (1985a):

Prevalence and distribution of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in retail meats.
J. Food Protect. 48, 7, 595-599

STERN, N.J. u. A.W. KOTULA (1982):

Survival of Campylobacter jejuni inoculated into ground beef.
Appl. environ. Microbiol. 44, 5, 1150-1153

STERN, N.J., P.J. ROTHENBERG u. J.M. STONE (1985b):

Enumeration and reduction of Campylobacter jejuni in poultry and red meats.
J. Food Protect. 48, 7, 606-610

STICHT-GROH (1985):

Über die Bedeutung von Campylobacter als Diarrhoeerreger des Menschen.
Ärztl. Lab. 31, 173-192

SVEDHEM, Å., B. KAIJSER u. E. SJÖRGEN (1981):

The occurrence of Campylobacter jejuni in fresh food and survival under different conditions.
J. Hyg. Camb. 87, 421-425

TANNER, E.I. u. C.H. BULLIN (1977):

Campylobacter enteritis.
Br. Med. J. 2, 6086, 579

TEUFEL, P. (1982):

Campylobacter fetus ssp. jejuni-Ausscheidungsraten beim Schwein und Oberleben in Leitungswasser und Hackfleisch.
Fleischwirtsch. 62, 10, 1344

TURNBULL, P.C.B. u. ROSE, P. (1982):

Campylobacter jejuni and salmonella in raw red meats. A Public Health Laboratory Service survey.
J. Hyg. Camb. 88, 1, 29-37

ULLMANN, U. (1979):

Methods in campylobacter.
in: BERGAN, T. u. J.R. NORRIS (Hrsg.):
Methods in Microbiology. Bd. 13.
Academic press, New York, London, 435-452

ULLMANN, U. (1984):

Klinik-Diagnostik-Therapie von Erkrankungen des Menschen durch Campylobacter-Species.
Vortrag Berliner Mikrobiologische Gesellschaft, 13.11.1984

VANHOOF, R., B. GORDTS, R. DIERICKX, H. COIGNAU u. J.P. BÜTZLER (1980):

Bacteriostatic and bactericidal activities of 24 antimicrobial agents against Campylobacter fetus subsp. jejuni.
Antimicrob. Agents Chemother. 18, 1, 118-121

WATERMAN, S.C. u. R.W.A. PARK (1984):

A search for the source of Campylobacter jejuni in milk.
J. Hyg. Camb. 92, 333-337

WEBER, A., C. LEMBKE, R. SCHÄFER u. J. BERGMANN (1983):

Vergleichende Anwendung von zwei Selektivnährböden zur Isolierung von Campylobacter jejuni aus Kotproben von Tieren.
Zentralbl. Veterinärmed. B. 30, 175-179

WEISSER, W. (1983):

Erfahrungen mit der Isolierung und Klassifizierung von Campylobacter aus Fäzes von fleischfressenden Haustieren.
Tierärztl. Umsch. 38, 10, 717-721

WESLEY, R.D., B. SWAMINATHAN u. W.J. STADELMAN (1983):

Isolation and enumeration of Campylobacter jejuni from poultry products by a selective enrichment method.
Appl. environ. Microbiol. 46, 5, 1097-1102

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits vorveröffentlicht:

- ALBER, G. (1985):

  Sensible Campylobacter-Nachweismethodik: Erprobung an Schweinehackfleisch und Innereien des Schweines. in: Tätigkeitsbericht 1985 des Bundesgesundheitsamtes. MMV Medizin Verlag, München, 168-169

- ALBER, G. (1986)

  Comparison of enrichment media for detecting Campylobacter jejuni/coli in minced meat and offals of pigs. in: Institut für Veterinärmedizin - Robert von Ostertag - Institut, 2. Weltkongreß Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen, Berlin (West), 26.-30. Mai 1986. Abstracts, 112 und Proceedings I, 434-436

Die vorliegende Arbeit war für mich der Einstieg in die Mikrobiologie, die mich seither zunehmend fasziniert hat.

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. G. Reuter für seine wertvollen Anregungen und die verbindliche und entgegenkommende Art seiner Betreuung bedanken.
Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. D. Großklaus danke ich für die Möglichkeit zur praktischen Durchführung der Experimente im Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes. Mein Dank gilt auch seinem Bemühen, die Dissertation finanziell zu fördern.
Herrn Prof. Dr. R. Levetzow, Herrn Dr. E. Weise und Frau Dr. I. Schütt-Abraham sei für Ihre Unterstützung bei den Experimenten Dank gesagt. Besonders bedanken möchte ich mich bei Christiane Dittmar und Frau E. Trommer für ihre Hilfsbereitschaft, die sie mir entgegenbrachten.
Herr Dr. P. Teufel war für mich Vorbild in seiner engagierten und anregenden Art, sich mit mikrobiologischen Fragestellungen zu befassen.
Bei Herrn Dr. R. Holländer (Staatliches Medizinaluntersuchungsamt Osnabrück), Frau Dr. V. Sticht-Groh (Institut für Mikrobiologie und Hygiene an der Universität Würzburg) und Herrn Prof. Dr. A. Weber (Institut für klinische Mikrobiologie und Infektionshygiene an der Universität Erlangen) möchte ich mich herzlich dafür bedanken, daß sie mir Gelegenheit zu einem Besuch in ihren Instituten und zum Austausch über Fragen zu Campylobacter geboten haben. Darüber hinaus sei ihnen auch für die Zusendung der Campylobacter-Stämme gedankt.

Herzlichen Dank möchte ich auch Gisela Krueger sagen, die mit großer Sorgfalt und Zuverlässigkeit die Maschinenreinschrift anfertigte.

L e b e n s l a u f

Name:	Gottfried Alber
geboren:	10. April 1958 in Stuttgart
Schulbildung:	1965-1969 Volksschule Sielmingen, Landkreis Eßlingen
	1969-1970 Realschule Bernhausen, Landkreis Eßlingen
	1970-1978 Eduard-Spranger-Gymnasium, Filderstadt
	11.5.1978 Abitur
Studium:	1978-1984 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
	23.2.1984 Approbation als Tierarzt
Wissenschaftliche Tätigkeit:	seit April 1984 Dissertation in der Fachrichtung Fleischhygiene, Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie, Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin und im Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes Berlin
	seit 21. Oktober 1985 wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Fachrichtung Elektronenmikroskopie des Institutes für Mikrobiologie, Geflügelkrankheiten, Elektronenmikroskopie und Tierhygiene, Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☏ 3416451
Dissertationen

Berlin 1986